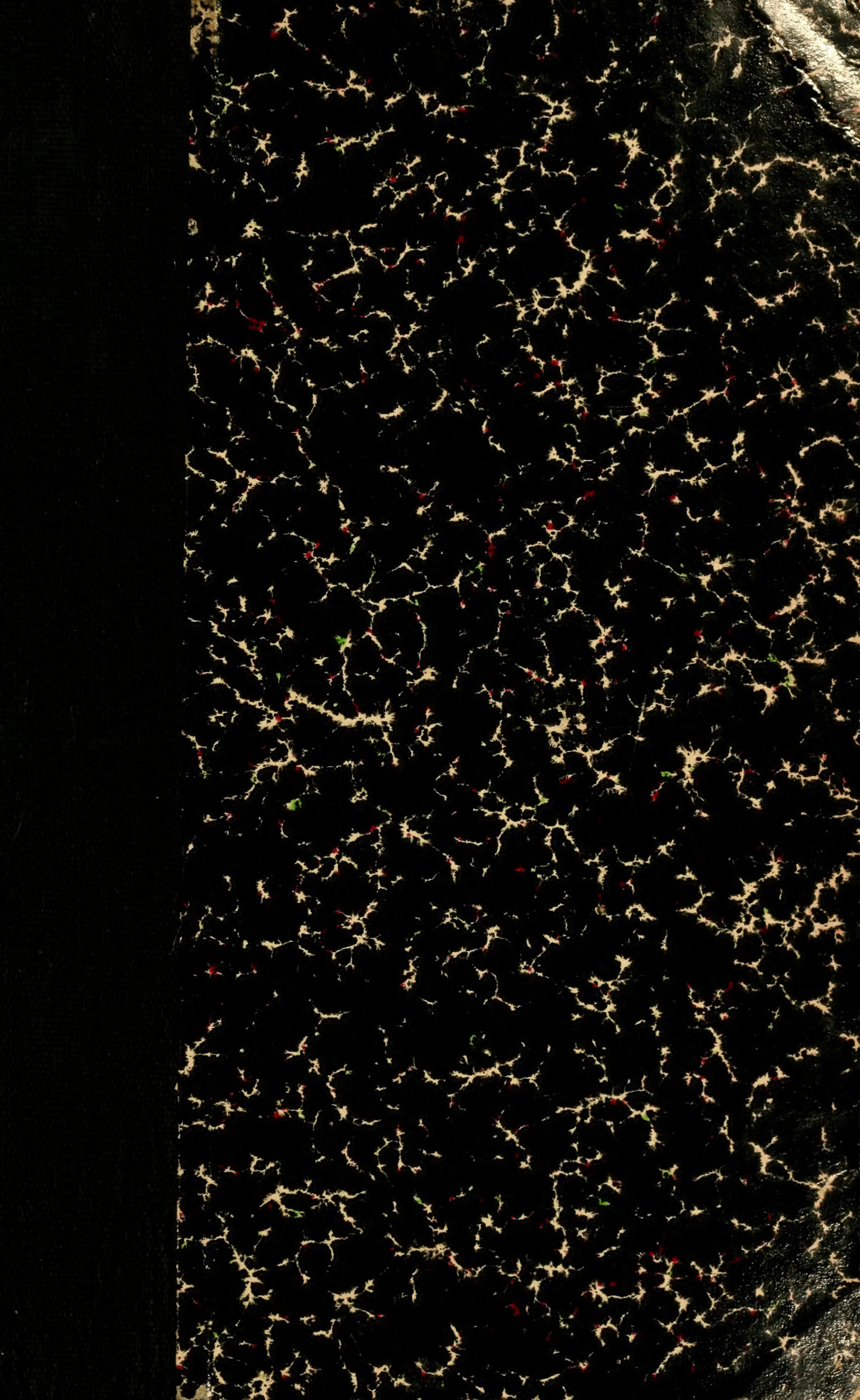


BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA

AÑO III = TOMO II

MADRID
IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1913

ÍNDICE DEL TOMO II

Págs.

SESIÓN DEL 17 DE ENERO DE 1913

Sobre la determinación de la tripsina en las heces



POR

A. MADINAVEITIA

En el jugo que el páncreas vierte al intestino se encuentran tres fermentos importantes, la tripsina, la amilasa y la lipasa; estos tres fermentos son expulsados en parte con las heces. La determinación de estos fermentos en las heces es uno de los puntos más importantes de su análisis, pues en la mayor ó menor cantidad en que estos fermentos se encuentren, tendremos una medida del funcionamiento del páncreas. En los casos de obstrucción pancreática, por ejemplo, encontraremos muy poco ó nada de estos fermentos.

De estos dos fermentos, la tripsina es el más típico del páncreas y el que no se segrega por ninguna otra glándula en el tubo digestivo; es el fermento que desdobla las albúminas y sus productos de digestión parcial en aminoácidos; á diferencia de la erepsina, el fermento proteolítico producido por el epitelio intestinal, que no digiere las albúminas propiamente dichas, y sólo desdobla sus peptonas y albumosas, la tripsina las digiere todas.

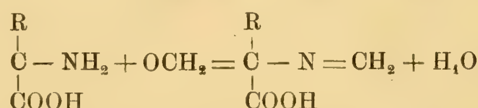
Muchos han sido los métodos propuestos para la determinación de la tripsina en las heces. Los más aceptados, son: el de las placas de suero de Müller y Schlecht, que la determinan por la dilución, en que una gota de suspensión de heces produce una oquedad por digestión en una placa de suero; los métodos de Volhard y Gross, que la miden por la digestión de la caseína, el primero valorando el álcali que queda libre al digerir un caseínato; el segundo, determinando la dilución en que se produce una digestión total; el método de Fuld, que determina la dilución para digestión total de una solución de albúmina de cáñamo.

Todos estos métodos adolecen de defectos que hacen que los datos que proporcionan no sean de una exactitud suficiente; el método de las placas

de suero está ya casi completamente abandonado por la inexactitud de sus datos, pues es muy difícil decir hasta qué dilución se ha producido una marca en la placa, puesto que en realidad, mayor ó menor se produce en todas. Los métodos de digestión total proporcionan todos ellos datos poco exactos.

En las heces no sólo se encuentra tripsina, sino que va acompañada por la erepsina. Los métodos que determinan la tripsina por digestión de la caseína, determinan juntos los dos fermentos, pues la erepsina digiere esta albúmina lo mismo que la tripsina. Así, por ejemplo, las heces de un enfermo en que por la falta de amilasa y de digestión de las grasas, era segura una obstrucción pancreática (que confirmó la autopsia), daban por el método de Gross 30 unidades de tripsina.

La falta de un método seguro me ha forzado á buscar uno. Empleo como albúmina para la digestión, la albúmina de huevo (en forma del preparado de Witte, para tener condiciones constantes); efectúo la digestión durante veinticuatro horas á 37°, y valoro la cantidad de aminoácidos formados con lejía de sosa, por el método de Sörensen (1), consistente en la condensación del grupo amínico de estos ácidos con el aldehido fórmico; los aminoácidos, que son cuerpos que dan reacción neutra por ser ácidos y bases á la vez, pasan á ser ácidos valorables cuando por condensación con un aldehido se suprime su resto amínico.



$$\begin{array}{c} R \\ | \\ C \\ | \\ COOH \end{array} - NH_2 + OCH_2 = \begin{array}{c} R \\ | \\ C \\ | \\ COOH \end{array} - N = CH_2 + H_2O$$

Empleando para la digestión la ovoalbúmina, se evita el error que en los demás métodos produce la erepsina, pues este fermento apenas digiere la albúmina de huevo, como ha demostrado Lambert (2). Midiendo solamente el comienzo de la reacción, las cantidades de ácidos halladas son proporcionales á la cantidad de fermento.

La solución para la digestión la preparo disolviendo 10 gramos de ovoalbúmina Witte en 1.000 cent. cúb. de agua; á esta solución se añade 1 cent. cúb. de cloroformo, para facilitar la conservación.

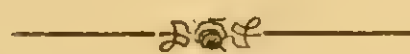
Para la digestión, se toman 100 cent. cúb. de esta solución, que se neutralizan con lejía decinormal, empleando como indicador el papel de tornasol; después de llegar á la neutralidad, añado 10 cent. cúb. de la misma lejía; 5 gramos de heces se deslíen en un mortero con 15 centímetros cúbicos de solución de carbonato sódico al 1 por 100, y esta emul-

(1) *Biochem Zeitschr.* T. 45 (1907).
(2) Soc. de Biol., 55, 416 (1903).

sión se centrifuga hasta que no aumente el sedimento. De la capa superior se toman 5 cent. cúb. que se añaden á los 100 cent. cúb. de albúmina anteriormente citados, y el matraz se coloca durante veinticuatro horas en la estufa á 37°. Después de este tiempo, se acidula débilmente el contenido del matraz y se miden 100 cent. cúb. que se calientan hasta ebullición; después de enfriado se completa con agua hasta los 100 centímetros cúbicos y se filtra por un filtro seco. En 50 cent. cúb. del filtrado se valoran los aminoácidos por el método de Sörensen. A los 50 centímetros cúbicos se añade 1 cent. cúb. de felnoftaleina al 1 por 100 y se neutralizan con lejía decinormal. Se añaden 10 cent. cúb. de solución comercial de formol al 40 por 100, neutralizados previamente y se valoran ahora con lejía decinormal los ácidos formados, añadiendo lejía hasta que la solución adquiera el mismo tinte rojo que un matraz patrón que contiene 50 cent. cúb. de agua, con 1 cent. cúb. de fenolftaleina y al que se han añadido 3 gotas de lejía, después de la aparición del primer tinte rosado; de este modo se evita el error que si no produciría la gran disociación hidrolítica de las sales de ácidos tan débiles como los derivados metilénicos de los aminoácidos.

El número de centímetros cúbicos empleados para la neutralización nos dará una medida del número de aminoácidos existentes en la solución; de él habremos de restar el número de centímetros cúbicos empleados en una experiencia paralela en que no haya habido tiempo de digestión para hallar el número correspondiente á los aminoácidos formados.

El material de determinaciones que hasta ahora tengo no es lo suficientemente extenso para ser comunicado; espero que lo podré hacer en breve.



Nota sobre el poder antihemolítico del extracto de suprarrenal

POR

G. MARAÑÓN Y J. A. DE CELADA

En una de las pasadas sesiones de esta Sociedad (1) expusimos nuestras observaciones sobre la acción hemolítica de diferentes extractos de órganos, y, al final, llamábamos la atención sobre un fenómeno que en el curso de nuestros trabajos se nos había ofrecido con una significativa constancia; nos referimos á la *falta de capacidad del extracto de suprarrenal para destruir los hematíes*. Este extracto, en efecto, puesto en las mismas condiciones que los otros extractos de los diferentes órganos del cuerpo, jamás destruye los glóbulos rojos; dejando varios días los extractos abandonados, cuando aun en los más inactivos sobrevienen fenómenos probablemente bacterianos que dan lugar á la hemolisis, en los tubos que contienen el extracto suprarrenal, la hemolisis no ocurre nunca.

Partiendo de estos hechos hemos emprendido algunas investigaciones que damos á conocer en esta nota.

En la literatura sobre este asunto nos encontramos el trabajo de Tarassevitch (2), que divide los órganos en dos grupos, según que sus extractos disuelvan ó no los glóbulos rojos. Entre los órganos no hemolíticos y al lado del hígado, riñón y médula ósea, incluye las cápsulas suprarrenales, pero sin dar ninguna significación especial al fenómeno.

Achard, Foix y Salin (3) tampoco han visto hemolisis en los tubos que contienen este extracto, pero tampoco insisten sobre el hecho.

Korschun y Morgenroth (4), por el contrario, han visto alguna vez (sin detallar en qué circunstancias) poseer propiedades hemolíticas al extracto de suprarrenal.

Estos son los únicos datos que nosotros hemos hallado sobre la materia. En cuanto á los estudios más extensos sobre las cápsulas suprarrenales, que tanto han dado que escribir en estos últimos años, en ninguna parte hemos visto mencionarse nada que se refiera á la acción hemolítica de sus extractos.

(1) Nota sobre el poder hemolítico de los extractos de bazo. BOLETÍN DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOLOGÍA, I, 305.
(2) *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1902, tom. XVI, p. 129.
(3) *Press. Med.*, 1913, pág. 121.
(4) *Berliner Klinische Wochenschrift*, 1902, núm. 37.

Una primera afirmación queremos dejar sentada: *el extracto de suprarrenal nunca es hemolítico*, como ya hemos dicho, y con esto confirmamos los datos de los autores citados, excepto los de Korschun y Morgenroth, que son excepcionales, no repetidos por nadie, y no tienen verdadero valor por lo tanto.

Operando muchas veces con extractos preparados de diferentes modos, asépticos ó no asépticos, y mantenidos en observación á la temperatura corriente ó en estufa, durante espacios de tiempo variables, nosotros hemos visto hemolisis con varias clases de órganos, aun con algunos no considerados como hemolíticos por Achard, Foix y Salin (el hígado, por ejemplo, que en nuestras experiencias era frecuentemente hemolítico). El extracto suprarrenal era siempre inactivo.

Si abandonamos á la putrefacción estos tubos conteniendo los extractos de órganos mezclados con los eritrocitos, al cabo sobreviene la hemolisis, aun en los no hemolíticos, en condiciones normales de asepsia y tiempo, en parte por autolisis de los tejidos, en parte por espontánea destrucción de los glóbulos rojos. Esto se observa muy bien con los extractos de riñón y de tiroides. Unos y otros no destruyen los hematíes, pero en esas condiciones desfavorables la hemolisis se verifica.

Pues bien, en los tubos que contienen el extracto de suprarrenal, *esa hemolisis tardía no se observa jamás.*

Esto nos condujo á la idea de que dichos extractos de suprarrenal, *no sólo no son hemolíticos, sino que deben estar dotados de propiedades antihemolíticas.*

Esta cuestión de las substancias antihemolíticas de los extractos, que algunos autores mencionan, es la que queremos poner en claro, refiriéndonos particularmente á las glándulas suprarrenales.

Si nosotros mezclamos un extracto de órgano seguramente hemolítico, el bazo, por ejemplo, á una cierta cantidad de extracto de suprarrenal, nosotros observamos, en efecto, que la hemolisis no se verifica.

Véase la tabla siguiente:

TUBO	Suero fisiológico.	Glóbulos rojos al 1/5	Extracto de bazo.	Extracto de suprarrenal.	Hemolisis.
I...	3 cent. cúb.	1 cent. cúb.	3 cent. cúb.	0	Fuertemente positiva.
II...	3 —	1 —	3 —	0'05 cent. cúb.	Ligeramente positiva.
III...	3 —	1 —	3 —	0'1 —	Ligeramente positiva.
IV...	3 —	1 —	3 —	0'25 —	Hemolisis levísima.
V...	3 —	1 —	3 —	0'50 —	Negativa.
VI...	3 —	1 —	3 —	1 —	Negativa.

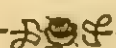
Como se ve, el extracto de suprarrenal, aun á dosis pequeñas, entorpece ó inhibe la acción hemolítica de un extracto que por sí solo es seguramente activo, como lo demuestra el tubo I. Cuantas veces hemos repetido esta experiencia, los resultados han sido idénticos.

Si en lugar del extracto de suprarrenal mezclamos con el extracto de bazo otra substancia no hemolítica, pero tampoco antihemolítica (extracto de riñón, por ejemplo), la hemolisis se verifica perfectamente.

El extracto de suprarrenal posee, pues, una acción antihemolítica segura. ¿A qué se debe esta propiedad? *Lo probable es que sea debida á la colesterina que contiene.* Conocida la propiedad antihemolítica de este lipoide y conocida también la gran riqueza en colesterina de las glándulas suprarrenales, esta suposición no puede ser más lógica. La apoyan todavía otros dos hechos observados por nosotros; el extrato de suprarrenales de conejas embarazadas posee más acentuadamente que el de coneja normal esta propiedad antihemolítica; y es sabido que durante el embarazo aumenta la colesterina de dichos órganos. Otro hecho que habla en igual sentido es que, según recientes observaciones nuestras, que más adelante ampliaremos, el extracto de cerebro—que tan rico es también en colesterina—ejerce asimismo una positiva acción antihemolítica (aunque no tan marcada como la del extracto suprarrenal).

Nos parece muy interesante este asunto, pues dada la gran actividad antihemolítica de los extractos de suprarrenal y las grandes variaciones en colesterina de la sangre circulante, no puede el espíritu sustraerse á la idea de que las suprarrenales, como principales órganos productores de la colesterina, puedan influir en las propiedades hemolíticas de la sangre. Con este fin hemos emprendido otra serie de experiencias que, hasta ahora, nos parecen demostrar que el extracto de suprarrenal puede retardar ó inhibir la acción de los sueros hemolíticos. Previamente, adelantamos este resultado que actualmente tratamos de confirmar y fijar con precisión.

(Laboratorio de Medicina legal de la Facultad de Medicina de Madrid).



SESIÓN DEL 21 DE FEBRERO DE 1913

El retículo de Golgi en las células del granuloma experimental producido por el Kieselgur

POR

F. TELLO

Para el esclarecimiento de la función del retículo de Golgi ha de influir seguramente bastante el estudio de las alteraciones que ocurren en los retículos, al mismo tiempo que el protoplasma y el núcleo se alteran en los procesos patológicos, pero la patología experimental aportará seguramente más importantes datos para la explicación de tan enigmáticos retículos, siguiendo la vía emprendida por Marcora al estudiar lo que ocurre con los retículos de las células del hipogloso después de la sección del nervio.

Nosotros hemos emprendido unas experiencias sobre la influencia de distintos agentes mecánicos y químicos sobre estos retículos, valiéndonos del granuloma experimental subsiguiente á la inyección del *Kieselgur*. Como es sabido, esta substancia, conocida con el nombre de harina fosil, es un polvo blanco compuesto en su mayor parte de diatomeas, de gran poder absorbente, utilizada, entre otros usos, en la fabricación de la dinamita, que Podwissozky inyectó por primera vez en 1910, buscando nuevos argumentos para la teoría de Virchow de los estímulos formativos, fundándose en que por sus numerosos ángulos agudísimos constituye un fuerte estímulo mecánico muy duradero, puesto que á los setenta y dos días todavía persisten en los tejidos en el mismo estado y libre, fuera de la acción excitadora que pueda corresponder á sus componentes, hierro y fosfatos, de toda otra acción química nociva.

Hemos hecho inyecciones subcutáneas é intraperitoneales del *Kieselgur* esterilizado en varios conejos y hemos sacrificado tres hasta ahora, uno á los quince días, inyectado debajo de la piel, y dos á los treinta, uno peritoneal y otro subcutáneamente. No entra en nuestros propósitos describir á la menuda todo lo observado con los métodos comunes que confirma en su mayor parte lo dicho por Podwissozky, y ha de ser objeto

de una monografía; limitarémonos á hacer las indicaciones precisas para la inteligencia de lo que se refiere á los retículos de Golgi.

Para poner de manifiesto los retículos hemos utilizado el método del urano, habiendo obtenido excelentes impregnaciones en todas las células de la granulación. Esta ya á los quince días está constituída por algunos leucocitos polinucleares, resto de los que exclusivamente formaron los nódulos en las primeras cuarenta y ocho horas, varios leucocitos mononucleares, numerosas células epitelioides y gigantes, dentro de un estroma de trabéculas conectivas y vasculares neoformadas. Todos estos distintos elementos hállanse distribuídos en una zona central constituída por innumerables diatomeas y muchos leucocitos, y surcada por varios vasos neoformados y otra periférica en que predominan las células epitelioides y gigantes; á los treinta días la zona central ha desaparecido por completo, teniendo toda la granulación una estructura semejante á la periférica antes dicha, encuéntranse casi todas las diatomeas englobadas dentro de las células, siendo numerosas las que se hallan dentro de cada una, hasta alcanzar en ocasiones proporciones colosales de modo tal, que todo el protoplasma de las células gigantes está materialmente repleto de diatomeas. Estas, en las preparaciones impregnadas por el nitrato de plata, quedan sin teñir, pero resaltan siempre extraordinariamente por su gran refringencia si se diafragman de un modo adecuado, apreciándose con toda claridad, cuando la especie lo consiente, sus variados dibujos. Los núcleos se diseñan vagamente, más coloraciones complementarias con hematoxilina, tionina y fuchsina, les dan suficiente relieve para que la imagen del conjunto sea lo instructiva que debe ser.

Los retículos de las diferentes clases de leucocitos, de las células conectivas fijas, de las endoteliales de los vasos, y finalmente de las células epitelioides, confirman las observaciones anteriores de Bergen, Verson y Deineka, en tejidos normales y en el tubérculo, dejando para otra ocasión su descripción prolija; ahora nos limitaremos al estudio de las células gigantes, que constituyen el elemento característico del granuloma producido por el *Kieselgur*.

Las células gigantes diferéncianse notablemente por sus caracteres estructurales de las células gigantes de los demás granulomas, tanto infecciosos como producidos por cuerpos extraños, y según dice Podwissozky, y nosotros hemos comprobado, en ninguna de las diez láminas de la completa monografía de Babes, *Beobachtungen über Riesenzellen*, hállase alguna semejante; su tamaño oscila entre 0‘05 mm. y 0‘3 mm., siendo en su mayoría de 0‘1 á 0‘2 mm., de modo que muchas son visibles ya á simple vista como puntos obscuros en las preparaciones argénticas; su morfología es diversa, exhibiendo raramente formas redondeadas, ovoideas ó

rectangulares y caracterizándose las más por lo irregular de su forma alargada, con estrechamientos y dilataciones, que cambia de dirección repetidas veces; poseen un número extraordinario de núcleos, habiendo contado en algunas más de 200, en ocasiones dispuestos en corona, pero que frecuentemente ocupan todo el espesor de la célula, lo mismo en el centro que en la periferia, y finalmente en el protoplasma, y entre los núcleos se acumulan numerosísimas diatomeas, que prestan á estas células un extraño aspecto.

Otro interesante carácter de las células gigantes que nuestras investigaciones ponen de manifiesto es la distribución del retículo de Golgi, que las separa de las demás células gigantes hasta ahora investigadas. En las del tubérculo, según Verson, constituyen un retículo central, semejante, hasta cierto punto, al de las células epitelioides, aunque mucho más grande, y formado de trabéculas espesas, y aunque Ramón y Fañanás (observaciones todavía inéditas), ha visto una interesante fragmentación de este retículo en la mayor parte de las células gigantes del tubérculo, hasta el punto de reducirse á bastoncitos ó gránulos, siempre apercíbese claramente su procedencia de un retículo único. Nosotros hemos visto los retículos de varias células gigantes de un epitelioma de la lengua y en todas ellas existía un solo retículo central. Las grandes células del granuloma del *Kieselgur* poseen numerosos retículos, esparcidos con cierta regularidad por todo el espesor de la célula.

Cada uno de los múltiples retículos posee varios filamentos varicosos entretejidos en forma de red, pero tan apretados, que solamente con fuertes aumentos pueden resolverse bien las redes. Su tamaño es bastante constante y aun en aquellas células en que los retículos están aumentados de volumen, lo están todos por igual. Frecuentemente, algunos hilos que parten del retículo parecen perderse en el protoplasma, pero es muy fácil ver, cuando dos retículos están próximos, que los filamentos sueltos de un retículo se corresponden hasta cierto punto con los del vecino, y en más de una ocasión se los ve efectivamente reunidos por algunos hilos.

El aspecto multirreticulado vese ya en las gigantes más pequeñas, pero gana en claridad en las grandes, existiendo una determinada relación entre el número de núcleos y el número de retículos. Las más diminutas de todas, aquellas que parecen constituir un nexo entre las gigantes propiamente dichas y las epitelioides, suelen presentar cuatro ó más núcleos periféricamente dispuestos y un retículo central, bastante más desenvuelto que el de las epitelioides; mas á poco que crezca el caudal nuclear comienzan á mostrar dos retículos con algún núcleo intermedio, después tres, y así sucesivamente, hasta el crecido número que exhiben las más grandes.



Si bien la disposición que acabamos de describir es la más constante, hállanse, empero, células gigantes con el aparato reticular distintamente conformado, que á nuestro modo de ver guardan relación con su patología y que pueden resumirse en dos tipos distintos, el hipertrófico y el fragmentado, con combinaciones de ambos. En las células de aparato *hipertrófico*, éste es único, ocupa el centro de la célula y consta de varicosidades notablemente gruesas, muy numerosas, que aparecen dispuestas más bien en montón que en red, puesto que aun en los casos en que se conservan los puentes de unión cuesta trabajo distinguirlos por el apretamiento y negrura del retículo. Frecuentemente es posible apreciar dentro de tal masa negra una iniciación del retículo múltiple característico de las células gigantes y con no menor frecuencia las varicosidades quedan libres, por desaparición de los puentes de unión. La *fragmentación* del aparato de Golgi ocurre de modo diferente, que pueden resumirse en fragmentación con difusión y fragmentación del retículo concentrado. Tanto en uno como en otro desaparecen los finos hilos, resolviéndose el aparato en una multitud de gránulos ó bastoncitos completamente sueltos, que se separan y achican gradualmente hasta desaparecer en la variedad difusa y se reunen en el centro, palideciendo poco á poco hasta no ser perceptibles en la concentrada. Estos retículos, que nosotros estimamos como patológicos, dentro de la granulación producida por el *Kieselgur*, son poco abundantes en relación con las células, que lo conservan perfectamente modelado en numerosos retículos parciales.

La génesis de estos múltiples retículos está indudablemente ligada con la de las mismas células gigantes. Conforme observó Podwissozky, el número de mitosis entre las células de la granulación es sumamente restringido y sólo se observan en los primeros momentos, en tanto que las divisiones directas son numerosísimas, hecho que, según dicho autor, contrasta con lo observado por él en otras granulaciones por cuerpos extraños (licopodio, etc.), probablemente porque la gran cantidad de diatomeas englobadas constituye un elemento muy perturbador para los cambios de la cariokinesis, destruyendo los filamentos del huso. Aunque nosotros hemos encontrado alguna mitosis en células que tenían diatomeas englobadas, contra su afirmación, hay que reconocer, en general, el hecho como exacto, pues son escasísimas las encontradas, debiéndose sin duda ninguna la gran multiplicación nuclear de tales células á la división amitósica de los núcleos, combinada con la fusión celular. Este procedimiento genético de las células gigantes por fusión de otras células, difícil de aceptar, según Langhans, ha sido mantenido por algunos investigadores (Charcot y Gombault, Metchnikoff), pero ha encontrado fuerte oposición en la mayoría; sin embargo, el hecho es bien evidente, pudiendo afir-

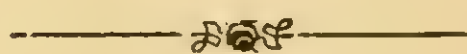
marse que si lo general es la formación de las células gigantes por división nuclear, es indudable que en los primeros momentos existen casos raros de fusión celular, según dice Podwissozky.

Cuando se observan por primera vez las células gigantes, con su retículo múltiple, hacen pensar en la fusión de las células epitelioides, conservando completamente separados sus retículos respectivos, mas una observación detenida, apelando á los teñidos nucleares complementarios y las coloraciones comunes, hace ver la desproporción evidente que existe entre la enorme cantidad de núcleos que encierran tales células y su relativamente escaso protoplasma y aleja del espíritu la idea de que el único procedimiento de formación sea la fusión de las epitelioides. Por otra parte, es muy fácil el observar verdaderas fusiones celulares entre células próximas que englobaban porciones distintas de largas y grandes diatomeas, pero no son fusiones de células uninucleares, sino que por lo común las células que se fusionan poseen ya varios núcleos y después continúan multiplicándolos, de modo que existen superpuestos los dos procesos, la multiplicación nuclear relacionada posiblemente con la excitación formativa determinada por el *Kieselgur* y la fusión celular que responde á la necesidad de englobar cuerpos extraños, demasiado grandes para ser contenidos en una sola célula.

Los retículos múltiples no son debidos á la fusión celular. Ya desde los primeros momentos apercíbense células relativamente pequeñas, con escaso protoplasma y varios núcleos en corona, que poseen un retículo central único, viéndose en seguida todas las fases de transición imaginables entre estas células y las gigantes más grandes, simplemente por la división sucesiva del aparato de Golgi, contemporánea con la división nuclear y probablemente por ella misma determinada. Verson observó la división del retículo y su repartimiento entre las dos células hijas, en las amitosis de algunas células del tubérculo, y Deineka hace resaltar el contraste existente entre la dispersión del retículo que acompaña á la cariokinesis (*dictokinesis* de Perroncito), con su perfecta conservación durante toda la división directa entre los dos núcleos resultantes, la división. Nosotros hemos visto claramente que la multiplicación del retículo se verifica por la división del existente, pero así como en la observación dibujada por Verson, parece ser motivada la división del retículo por el estiramiento progresivo del protoplasma con que se termina la división directa, en nuestra observación el protoplasma resta indiviso, mientras que los retículos se fraccionan de una manera continua, como los núcleos, pero reconstituyendo siempre ó casi siempre su volumen primitivo, puesto que en casi todos es igual.

¿A qué se debe tal multiplicación del retículo? La primera idea que se

nos ocurrió fué el que las diatomeas englobadas de un modo completamente mecánico, determinaran la división del retículo, y, efectivamente, en algunos casos así parece ser, mas en la mayor parte no hay relación clara entre la disposición de las diatomeas en el interior de las células y la división de los retículos. Parécenos que la multiplicación nuclear ejerce la principal influencia, mas no mecánicamente, interponiéndose entre las diferentes porciones del retículo ó dislocando cualquier atadura que entre ambos pudiera existir, sino de un modo físico ó químico, por existir entre los núcleos y este aparato relaciones mucho más importantes que las conocidas hasta ahora. La desigual morfología del aparato de Golgi en las distintas células gigantes investigadas, nos parece responder al diferente estado de conservación del protoplasma, presentándose desde este punto de vista como las más normales, las observadas por nosotros en un epitelioma con los núcleos excéntricos y un retículo evidente en medio y constituyendo las células gigantes del *Kieselgur* y del tubérculo, desviaciones de este tipo normal en diverso sentido, pues si bien en los dos casos hay abundante proliferación nuclear, en la granulación determinada por las diatomeas el estímulo es únicamente mecánico, falta toda acción tóxica y el protoplasma se conserva relativamente en buen estado, pudiendo acompañar la multiplicación del retículo á la de los núcleos, en tanto que en el tubérculo la proliferación nuclear no alcanza tan extraordinaria medida y, por otra parte, el protoplasma atacado por las toxinas del microbio (caseificado en su centro, según Weigert), no se encuentra en condiciones de seguir los movimientos nucleares siquiera sea solamente con la división del retículo, sino que, por el contrario, el grueso retículo central se fragmenta y disgrega hasta quedar reducido á granulaciones casi imperceptibles, según ponen de manifiesto las indagaciones de Fañanás.



Contribución al estudio de la fotografía de las huellas invisibles

POR

H. WELSCH Y A. LECHA-MARZO

En nombre del Dr. H. Welsch, profesor agregado del Instituto de Medicina legal de la Universidad de Lieja, y en el mío también, presento una breve nota preventiva como contribución al estudio de la reproducción fotográfica de las huellas dejadas por los delincuentes en los objetos que se encuentran en la escena del crimen.

En nuestro *Manuel pratique de dactyloscopie* (1) hemos referido los procedimientos que hoy se emplean para revelar por medio de distintos reactivos las huellas invisibles y los procedimientos de fotografía (haciendo ó no la revelación). Su estudio no es el fin de la presente nota. Nos interesa sólo decir que los procedimientos fotográficos fracasan cuando se trata de fotografiar una impresión incolora que se encuentra en un fondo blanco ó muy claro; es el caso, por ejemplo, de una impresión sudoral en la porcelana blanca. Era necesario colorear primero esta huella, después fotografiarla. Nosotros hemos encontrado un procedimiento que permite fotografiar estas huellas, sin la intervención de ningún colorante, solamente por un juego de luz apropiada.

Sobre un objeto de porcelana blanca aplicamos uno de nuestros dedos, y la impresión sudoral que hemos obtenido es invisible. El objeto de porcelana es liso y brillante, dicho de otra manera, hace el oficio de espejo, y si el objeto está fuertemente iluminado por una lámpara, colocándonos lo más cerca posible entre el objeto y la lámpara, veremos dibujarse la imagen de ésta en la superficie de la porcelana. Si hay una impureza en la superficie de este espejo, aquí la imagen de la lámpara no se percibe, y esto se observa aun en el caso en que la impureza posea la misma coloración ó la misma intensidad luminosa que la superficie de la porcelana. La imagen de la lámpara no se refleja á este nivel, y aunque tengan la misma iluminación las partes que presentan la imagen de la lámpara, parecen mucho más luminosas. Por consiguiente, todos los pun-

(1) *Welsch* y *Lecha-Marzo:* Manuel pratique de dactyloscopie. Vaillant-Carmanne, Lieja y Baillière, París, editores, 1912.

tos de la superficie de porcelana cubiertos por la impresión digital se presentan menos luminosos.

Si colocamos el objeto en un lugar obscuro y hacemos que la imagen de la lámpara se refleje sin que ninguna otra parte del objeto esté iluminada, la huella, en el caso de que se encuentre en la parte que refleja la imagen de la lámpara, parecerá negra sobre un fondo muy luminoso. Hemos hecho muy netamente visible la huella que en las condiciones ordinarias era casi completamente invisible.

Nosotros reunimos las condiciones citadas del modo siguiente:

El material necesario consiste en un aparato fotográfico, una fuente luminosa, tal como un mechero de incandescencia (si es posible con un tubo mate para disimular la trama del manguito), un espejo cóncavo (el de un microscopio puede servir), una pantalla ó sencillamente una hoja de cartón. Se trabaja en la cámara obscura. Colocamos el objeto frente al objetivo y lo iluminamos con la fuente luminosa colocada en su vecindad. Instalamos el espejo lo más cerca posible del objetivo y enviamos los rayos luminosos de manera que el ojo del observador colocado en sustitución del objetivo perciba la imagen del espejo iluminado en el lugar en que se encuentra la huella, que aparece negra sobre fondo luminoso. Colocamos la pantalla entre el objeto y la fuente luminosa; de este modo el objeto no se presenta iluminado más que por el espejo y en el lugar en que su imagen se refleja. Basta sustituir entonces el ojo por el objetivo del aparato fotográfico y hacer el enfoque. Cuando esto lo hemos conseguido, cuando percibimos muy bien la huella, el espejo, ó más exactamente la imagen reflejada del espejo no está enfocada, su contorno está esfumado.

La presencia del espejo se traduce únicamente por una zona luminosa en la que se dibuja en negro nuestra impresión.



A propósito de la reacción de Barberio

(Respuesta al Dr. B. Baecchi)

POR

A. LECHA-MARZO

Es uno de los últimos trabajos comunicados por el Dr. Brunetto Baecchi á la Sociedad Médica de Parma (1), sobre la génesis de la reacción de Barberio, el que nos mueve á publicar una nueva y breve nota sobre esta reacción, siempre de interés.

Recordaremos que Barberio (2) en 1905 recomendaba para el reconocimiento médico-legal del esperma, tratar en el porta-objetos una gota de esperma ó de extracto acuoso concentrado de mancha espermática, por otra de solución acuosa saturada de ácido pícrico. Se forma un enturbiamiento, y á los pocos minutos la observación microscópica demuestra la existencia de numerosos cristales aislados ó reunidos en cruz, romboédricos y ovoidales, insolubles en el xilol, lo que permite obtener bellas preparaciones en bálsamo del Canadá.

En nuestro libro *La identificación del esperma* (Madrid, editor Moya, 1907), hemos expuesto los numerosos ensayos que nuestros colegas extranjeros y nosotros hemos hecho sobre la cuestión. Demuestran que la reacción es fácil de obtener no sólo con el esperma fresco, sino también con el esperma que ha sufrido determinadas influencias, como la de la putrefacción, elevadas temperaturas, la acción de ciertos agentes químicos, la acidez ó la alcalinidad del medio, etc.

Para obtener únicamente los cristales típicos y evitar la cristalización del ácido pícrico que tiene lugar en los bordes del preparado, Cevidalli (3) propuso el empleo de una solución glicérica saturada, y nosotros (4) las soluciones picro-gomosas. Ahora, Baecchi recomienda también estas soluciones gomosas, que permiten obtener cristales voluminosos.

(1) *B. Baecchi:* Sulla genesi della reazione del Barberio. *Bollettino della Soc. med. di Parma*, Julio 1912; *Arch. di Farm. sperim. e Scienze affini*, año XI, vol. XIV.

(2) *M. Barberio:* Nuova reazione microchimica dello sperma e sua applicazione nelle ricerche medico legali. *Rend. della R. Accad. delle Scienze Fisiche e Matematiche di Napoli*, fasc. 4, Abril 1905.

(3) *Cevidalli:* Ueber eine neue mikrochemische Reaktione der Sperma. *Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med.*, 3 F., Bd. XXXI, H. 1, pág. 27, 1906.

(4) Loc. cit., pág. 60.

Modica (1), Majone (2), De Dominicis (3), nosotros, Fraenkel y Müller (4), Levinsohn (5), Galbo (6), Stockis (7), etc., hemos concluído en que el principio activo derivaba de la próstata, ya que el jugo de este órgano suministra la reacción. De Dominicis ha sostenido siempre que la espermina era la causa de la reacción. Indicó que el jugo prostático no difería en su comportamiento del esperma si sometíamos la próstata á extracción con alcohol amoniacal hirviente y si empleamos este extracto para obtener la reacción; que la espermina se encuentra en el esperma al estado de fosfato; que hay identidad en el grado de solubilidad y en el comportamiento á las altas temperaturas (8), así como también en el tipo morfológico de los cristales de Barberio y los de fosfato de espermina ó de Böttcher; que el residuo de un extracto en alcohol amoniacal hirviente de manchas espermáticas, activo con el ácido pícrico, da la reacción del ácido fosfórico.

A continuación nosotros, en una Memoria «La prueba de Barberio en el diagnóstico médico legal de las manchas de esperma», publicada en español en una Revista de Oporto, la *Revista de Chimica pura e aplicada*, año III, números 9, 11, 15 de Agosto y 15 de Octubre de 1907, aportábamos un hecho nuevo, cuyo valor decisivo había de ser fijado después por Baecchi. Nosotros decíamos que esperma en estado de putrefacción avanzadísima, conservado en nuestro laboratorio durante diez meses, presentaba numerosos cristales de Böttcher y que tratado por el ácido pícrico permitió asistir á un curioso fenómeno: los cristales de Barberio se formaron, principalmente, alrededor y en el interior de los cristales de Böttcher. Y por esto concluíamos entonces que los cristales de Barberio, cuyo origen había sido perseguido con tanto empeño, estaban constituídos por un picrofosfato de espermina.

Por todo esto, no es justa la observación que nuestro colega Baecchi

(1) *Modica:* Sulla nuova reazione microchimica dello sperma. *Arch. di Farm. sperim. e Scienze affini*, año IV, vol. IV, fasc. 12, pág. 568.

(2) *V. Majone:* Sulla nuova reazione microchimica dello sperma. *Giorn. dell' Assocc. Napoletana dei Med. e Natur.*, año XV, 1906.

(3) *D. Dominicis:* Genesi e valore di una nuova reazione dello sperma. *Giorn. internaz. delle Scienze medica*, año XXVIII, fasc. 5, núm. 15, 1906; Sulla nuova reazione della spermina. Idem, año XXIX, 1907.

(4) *Fraenckel: Zeitsch. f. Medizinal beaumte*, Jahrg. XX, 1907.

(5) *Levinsohn:* Barberio's Reaktion auf Sperma. *Berl Klin. Wochenschr.*, núm. 41, pág. 1337, 1906

(6) *Galbo:* Sulla nuova reazione microchimica dello sperma del Barberio. *Riforma medica,* año XII, núm. 44, 1906.

(7) *E Stockis:* Sobre el valor médico-legal de los cristales de Barberio (traducción española nuestra). *Gaceta Médica del Sur de España*, Abril de 1908.

(8) No podemos suscribir esto último.

nos hace sobre este particular en su monografía citada. Dice que no he concedido la debida importancia al fenómeno descrito.

Debo declarar aquí, que en esta cuestión de los cristales de Barberio se me atribuyeron opiniones completamente contrarias á las que yo he sustentado. Me dediqué siempre á diferenciar los cristales de Barberio de los simples cristales de ácido pícrico, y se escribió que había encontrado formas (de Barberio) en arborizaciones. Se escribió también que, tratando los alcaloides por el ácido pícrico, había obtenido precipitados característicos, cuando he afirmado también lo contrario.

En mi citada monografía describo, en una parte, el fenómeno, y al hablar de la génesis de la reacción, vuelvo á recordar su importancia.

Y no sólo hay esto, además creí que podía dedicársele una nota aparte, que con el título «Sobre la génesis de los cristales de Barberio» (1), publicaron tres Revistas españolas. Además, dí cuenta á De Dominicis de mis hallazgos y éste los refirió en las Revistas de su país.

Y fué entonces cuando pensé que convendría someter á la acción del ácido pícrico los líquidos que contienen cristales más ó menos análogos á los de Böttcher. Y escribí en la *Gaceta Médica del Sur*: «Tendría algún interés reconocer, por medio del ácido pícrico, los esputos asmáticos, los del equinococo del pulmón, los coágulos fibrinosos del crup bronquial, los exudados pleuríticos, la sangre de los leucémicos, pues es sabido que contienen cristales de Charcot-Leyden». Hay que tener en cuenta también que Poehl (2) sostuvo que los cristales de Charcot-Leyden están constituídos por el fosfato de espermina y algunas de las reacciones que han sido propuestas para diferenciar estos cristales de Charcot-Leyden de los de Böttcher no son características, como sucede con la de Lewy (3).

Y en efecto, conseguí la confirmación, obtuve la reacción de Barberio, con los esputos de sujetos tuberculosos, y lo mismo les sucedió á Fraenkel y Müller con algunos de los líquidos patológicos señalados.

Vale, pues, todo esto para probar el interés que habíamos concedido á esta «afinidad estrechísima» entre el ácido pícrico y los cristales de Böttcher.

(1) *Lecha-Marzo:* Sobre la génesis de los cristales de Barberio. *Clínica y Laboratorio*, Noviembre-Diciembre 1907; *Protocolo Médico-forense*, año X, núm 1; *Gaceta Médica del Sur de España*, año XXVI, núm. 596.

(2) *A. Poehl:* Zur Erklärung der Wirkung der Spermin als physiologisches Tonicum auf die Autointoxicationem. *Berlin. Klin. Woch.*, 1893.

(3) *Lewy:* Sind die Charcot-Leyden'schen Krystalle mit den Böttcher'schen Spermakrystallen identisch? *Klin. exper. Beitr. z. inn. Med.*, 1899; citado por Baecchi.

Ahora Baecchi (1) propone para el diagnóstico médico-legal del esperma desecado, la demostración de los cristales de Böttcher en medio glicerinado y su transformación en cristales de Barberio.

Convenía confrontar ópticamente las dos especies de cristales, los derivados del esperma y los derivados de la substancia de los cristales de Böttcher. Los cristales mejor conformados los obtuvo Baecchi con la solución de fosfato de espermina tratada por nuestra solución gomosa. Hasta ahora no se ha conseguido fijar el sistema cristalino de los cristales de Barberio. El autor citado ha observado que los cristales obtenidos con el fosfato de espermina, como los cristales de Barberio, son netamente birrefrigentes y presentaban direcciones de extinción paralelas ó casi paralelas á las diagonales del rombo. También ha comprobado que hay diferencia, pero no grande, en el punto de fusión de los dos cristales. El picrato de los cristales de Böttcher dió un punto de fusión constante, entre 236 y 238°; el punto de fusión de los cristales de Barberio es de 224 y 226°.

Baecchi, con sus ensayos, refuerza, pues, este hecho demostrado por De Dominicis y nosotros, que los cristales de Barberio están constituídos por un picrofosfato de espermina. Cree que por lo menos en el esperma fresquísimo estarían sólo constituídos por un picrato de espermina.

Como hemos dicho, nuestro colega de Parma asegura que no habíamos concedido importancia al fenómeno descrito de la transformación de los cristales de Böttcher en cristales de Barberio. Creemos haber demostrado que si importancia habíamos concedido á este fenómeno, más era desmedida que no pequeña. Y Baecchi dice, además, que yo he pensado sólo en las granulaciones prostáticas de Robin, concediéndolas un papel importante en la reacción. Ahora bien, puede ser verdad que en el esperma el fosfato de espermina sea el *quid ignotum* de la reacción de Barberio y que en el jugo prostático sean las impresiones de Robin la causa de la misma, ó por lo menos en parte.

Además, en la monografía de Baecchi encontramos nosotros un hecho interesante en favor de esta opinión nuestra, y que á él le sirve para probar que en el esperma fresco la reacción de Barberio representa la formación de un picrato de espermina. Dice que examinó varias muestras de secreción prostática, más ó menos concentrada y en algunas casi pura, obtenidas en el comienzo de la defecación. Estas muestras, de aspecto lechoso, contenían gran número de gránulos prostáticos y estaban absolutamente desprovistas de espermatozoides. Con la solución

(1) *Baecchi:* Ricerche sui cristalli di Böttcher. *Boll. della Soc. Medica di Parma*, serie II, año V, fasc. 7; *Archivio di Farm. sperim. e Scienze affini*, año XI, vol. XIV.

acuosa saturada de ácido pícrico y con nuestras soluciones gomosas obtuvo una reacción típica de Barberio.

Debemos hacer constar también que este hecho había sido dado á conocer por nosotros en 1907, en nuestro libro ya citado (1). Decíamos allí, y yo no agrego ahora una palabra más, que el líquido prostático de hombres robustos obtenido sin mezcla de jugo testicular mediante presiones en la pared anterior del recto, sometido á la solución de ácido pícrico, me dió resultados positivos; los cristales amarillos y refringentes son redondos, ovoidales ó fusiformes; se ven pocas agujas rómbicas. Al lado de formas pequeñas observamos otras gigantes que no desaparecieron por los lavados en alcohol.

En este libro nuestro ya habíamos señalado este camino para descubrir el origen de las pruebas microquímicas. Hay que aislar los elementos formes, y sobre éstos, aislados, ensayar la reacción, y esto no sólo lo habíamos observado con el esperma, sino también con el líquido de la próstata.

Que se me permita reproducir aquí las líneas siguientes de mi citada monografía: «Parece también confirmar nuestra hipótesis de que las granulaciones prostáticas están relacionadas con la formación de los cristales de Barberio, el hecho siguiente: tratamos una gota de maceración de próstata por una gota de reactivo de Florence, procurando diluirla bien para que no se formaran los cristales de este autor; de esta manera conseguimos colorear de amarillo los gránulos prostáticos. Desecamos el preparado, lavamos con alcohol y obtuvimos así en el porta-objetos los corpúsculos aislados; tratamos por una gota de solución de ácido pícrico, y el examen microscópico evidenció formaciones parecidas á los cristales de Barberio».

Agreguemos también que estas cuestiones de prioridad son las que menos deben preocuparnos. Baecchi y nosotros hemos trabajado siguiendo la misma vía, y somos los primeros en reconocer el valor de sus investigaciones.

Pero hay otra cuestión más interesante aún. El esperma humano puede ser diferenciado del esperma de animales por los procedimientos biológicos, y si tenemos en cuenta las investigaciones de Barberio, las de Cevidalli, etc., al no suministrar el esperma de animales reacción positiva de Barberio, con esta sencilla prueba microquímica, se puede hacer este diagnóstico diferencial de tanta importancia en la práctica en los casos de supuesta bestialidad. Recordaremos que Barberio obtuvo reacción negativa con el jugo testicular, líquido prostático y de las vesícu-

(1) *Lecha-Marzo:* La identificación del esperma, pág. 74.

las seminales del cavia, conejo, perro, gato, etc.; Cevidalli obtuvo también reacción negativa con el esperma completo eyaculado de algunos animales domésticos (perro, caballo y cerdo). Galbo obtuvo resultados negativos con el esperma de cavia, de conejo, perro, toro y caballo.

Comprendimos que interesaba principalmente al práctico demostrar de una manera definitiva si el esperma de perro da ó no reacción positiva. Estos ensayos los dimos á conocer en 1908 (1). Habiendo obtenido con varias muestras de esperma de perro reacción francamente positiva, declarábamos haber perdido la esperanza de diferenciar merced á esta reacción el esperma del hombre del esperma de animales.

Poco después, nuestro colega De Dominicis (2) aseguró haber confirmado «perfectamente» nuestros resultados en sus experimentos en el perro, sobre la eyaculación en la muerte por suspensión. Recordemos que en el perro, en la muerte por suspensión, este autor ha demostrado la producción de una doble eyaculación, una durante el período convulsivo ó en sus últimas fases, y otra que coincide con los movimientos respiratorios terminales.

Pues bien; ahora Baecchi ha ensayado el esperma eyaculado por el perro y no obtuvo la reacción. Creemos que estos resultados pueden explicarse.

En el perro, como en el hombre, las primeras gotas del esperma eyaculado están constituídas por secreción prostática, y por esto dan la reacción de Barberio más francamente positiva. Me escribe estos mismos días De Dominicis: «En los animales no hay que considerar la continuidad, sino el período del impulso sexual». Agreguemos nosotros que esto explica los resultados negativos obtenidos en el perro por los autores citados.

No debemos olvidar que la reacción de Barberio denuncia la secreción prostática y que en alguna fase del impulso sexual el esperma puede estar privado de esta secreción y la reacción ser negativa.

Pero es verdad también aquello de que la ciencia es un camino de larga paciencia, y así, cuandc Barberio y todos los numerosos autores que hemos estudiado su reacción, asegurábamos que el testículo de hombre y de animales (incluyendo el conejo) no da jamás la reacción, yo he visto estos días que el jugo testicular del conejo suministra una reacción francamente positiva. Unos testículos no dieron la reacción, otros sí. No tengo que recordar aquí que antes de hacer esta afirmación he compro-

(1) *Lecha-Marzo:* Etude médico-legale sur les actes de bestialité. *Revue de Médecine légale*, 1908.

(2) *De Dominicis:* Doble eyaculación en la muerte por suspensión. Mecanismo de producción. *Protocolo Médico-forense*, año XI, núm. 12, 1909.

bado los caracteres morfológicos, ópticos y químicos de estos cristales (insolubilidad en el agua, alcohol, éter, cloroformo y xilol, solubilidad en la acetona), y además he podido conservar preparados que enviaré á mis colegas de Italia.

No creo necesario insistir sobre la importancia de este hecho. Interesa desde tres puntos de vista:

1.° Demuestra que no es sólo en la próstata donde encontramos la materia que origina la reacción.

2.° Confirma además nuestras ideas sobre la posibilidad de una reacción positiva con el esperma de animales.

3.° Hace pensar también que los cristales de Böttcher, que se admiten como específicos del esperma humano, puedan obtenerse con el esperma del conejo.

Finalmente, la cuestión interesa á los fisiólogos. Ultimamente, De Dominicis sostuvo que la espermina contenida en la próstata es el factor químico que ejerce un papel más importante en la génesis y continuidad del impulso sexual.

(Trabajo del Laboratorio de Medicina legal de la Universidad de Madrid.—Director: Prof. Maestre).

DESPACHO ORDINARIO Y MOVIMIENTO DE SOCIOS

Fueron presentados para socios los Sres. D. Vicente Llorente, por el Sr. Cajal, y D. Claudio Aznar, por el Sr. Marañón.

En la sesión del 17 de Enero fueron renovados tres de los cargos de la Junta directiva. Para Presidente fué reelegido D. Santiago Ramón y Cajal; para Secretario fué elegido D. Gonzalo R. Lafora, y para Vocal, D. José Casares.

Resumen de las cuentas desde la liquidación del 19 de Abril de 1912

INGRESOS

536 cuotas, á 2 pesetas	1.072,00
Existencias de la liquidación anterior	789,80
Total	1.861,80

GASTOS

Pagado al Colegio de Médicos por seis sesiones	75,00
Idem á los mozos por reparto y correo en nueve meses	196,35
Abonado á la imprenta de Moya por la impresión del BOLETÍN en este período	567,25
Total	838,60

10 recibos pendientes de cobro	20,00
81 ídem incobrables	162,00
Existen en caja	1.023,20

SESIÓN DEL 23 DE MARZO DE 1913

Método de coloración histológica por el negro de anilina producido en el tejido. — Comunicación previa.

POR

SIMARRO Y VILLAVERDE

El método empleado en tintorería se funda, como es sabido, en la oxidación de una sal de anilina que produce, sucesivamente, una materia colorante roja primero, después verde (esmeraldina), y, por último, negra (negro de anilina insoluble y resistente á los ácidos, á los álcalis, etc.).

Esta oxidación se verifica á expensas del clorato potásico y aun también del oxígeno del aire mediante la acción catalítica de ciertas sales de algunos metales como, por ejemplo, los vanadatos, sales de cobre y de hierro.

Los diversos procedimientos empleados en tintorería se reducen, en general, á impregnar el tejido con la sal metálica catalizadora y sumergirlo después en una mezcla de sulfato ó clorhidrato de anilina y clorato potásico. La acción catalítica se desarrolla lentamente, y de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, según la temperatura, se produce el verde esmeralda, que pasa á negro gradualmente. La exposición al aire ó la acción de otros oxidantes, como el bicromato potásico, completan la producción del negro. (Véase E. Noelting, A. Lehne O. Picquet, Le Noir d'Aniline· Paris-Aux Bureaux de la *Revue Generale des Matières Colorantes*, 1908).

Aplicando este procedimiento á la tinción histológica, hemos encontrado que se puede obtener la producción del negro de anilina, tanto en masa como en cortes, impregnando las piezas fijadas con formol (por breve tiempo), en una solución catalizadora bien de metavanadato amónico (á 0'25 por 100), bien en una solución de sulfato ferroso (al 5 por 100), ó sulfato de cobre (al 1 por 100), ó cloruro de cobre (al 2 por 100).

Además, puede usarse como catalizador (*pero sólo en cortes*) el ácido ósmico al 1 por 1.000, cuya acción ha hallado al mismo tiempo por métodos meramente químicos K. A. Hoffman. (Sanerstoff Uebertragung

durch Osminntetroxyd und Activirung von Clorat Lösungen. Berichte der Deutschen Chemischen Gessellschaft, núm. 16, 7 December 1912). También la impregnación previa por el nitrato de plata (al 5 por 100) en cortes, determina la producción del verde esmeralda. El paladio, el platino y el urano producen tan sólo y en cortes únicamente muy débiles coloraciones.

Después de impregnar el tejido con el catalizador, que se fija electivamente de un modo preferente, ya en los núcleos y tejido conjuntivo (metavanadato), ya en el protoplasma (hierro, plata y cobre), manteniendo la pieza en la solución á la estufa (á 37°) durante veinticuatro á cuarenta y ocho horas, se pasa bien lavada á una mezcla á partes iguales de solución acuosa de clorhidrato de anilina al 8 por 100 y clorato potásico al 4 por 100, en cuya mezcla, y también á la estufa, permanecerá de veinticuatro á cuarenta y ocho horas.

Si la coloración pareciese insuficiente, se puede reforzar la oxidación en una disolución de bicromato potásico al 5 por 100, cuya substancia, como oxidante que es, completa la reacción.

También puede obtenerse un efecto análogo empleando la esencia de trementina ozonizada, la cual, si los bloques se incluyen en parafina, puede servir como disolvente de ésta.

La coloración se obtiene más intensamente, usando como catalizador el vanadato amónico (0'25 por 100), en cuya solución deberán los objetos permanecer en la estufa veinticuatro horas. Después del vanadato, el sulfato ferroso es el catalizador que da coloraciones más intensas, pero no nucleares.

Las piezas coloreadas en masa se incluyen en parafina, de preferencia, pero pueden también incluirse en celoidina, porque tanto el verde esmeralda como el negro de anilina son inalterables é insolubles; sólo la materia colorante rojo violeta (primer grado de la oxidación de la anilina) se disuelve en el alcohol, pero se conservan, sin embargo, restos de ella cuando la pieza es grande y la inclusión rápida.

Los cortes se pueden aclarar con trementina ozonizada, que refuerza la coloración más que otras esencias.

Este método se ha aplicado, principalmente, al sistema nervioso y da resultados muy interesantes, que se describirán en una nota ulterior. Por el momento, sólo se indicarán los efectos de coloración generales que se pueden obtener en casi todos los tejidos (músculo, hígado, bazo, riñón uterino, testículo, centros nerviosos y cápsulas suprarrenales). En general, la coloración es intensa y muy opaca, apropiada para la fotografía. Con el vanadato se tiñen primeramente los núcleos, los cuales, en el hígado al menos, producen también el negro de anilina débilmente

y sólo en la periferia de los cortes, por congelación en fresco, aunque no se haya empleado catalizador alguno. Con el mismo vanadato los vasos, la sangre y el tejido conjuntivo toman coloración intensa cuando el protoplasma de los elementos nobles sólo aparece con la coloración rojiza del primer grado de oxidación de la anilina (músculos, centros nerviosos). Con el ácido ósmico (en cortes) se obtiene efectos análogos al vanadato, y lo mismo puede decirse de la plata, aunque la coloración es más débil.

Con las sales de cobre y de hierro, la coloración es principalmente protoplasmática y los núcleos no se destacan por contraste.

Se prosiguen estos estudios con otras sales metálicas, y sus resultados, todavía hoy inciertos, se comunicarán ulteriormente, así como también los resultados especiales obtenidos en el sistema nervioso.



La estructura de la neuroglia en la corteza cerebral

POR

N. ACHÚCARRO



El tejido intersticial neuróglico formaba, según las opiniones de Kölliker y de Deiters, un todo unido, gracias á las anastomosis de unas células con otras, las cuales se llamaron espongiocitos. Este concepto de la arquitectura del tejido intersticial era el resultado de los primeros ensayos histológicos practicados con métodos poco electivos y que ofrecían imágenes de poco contraste.

Los métodos de Golgi y de Weigert, que ofrecen cualidades diferenciales mucho más agudas, condujeron á la consignación de muchos datos de estructura que aún persisten en histología, y aunque los conceptos de organización á que dieron lugar no coincidían, ambos métodos se alejaban de la representación reticulada del tejido neuróglico.

En los últimos tiempos, una serie de autores se han preocupado de demostrar histológicamente el protoplasma de la neuroglia, volviendo en cierto modo á la antigua representación reticulada. A Hardesty y, sobre todo, á Held, se atribuye el crédito de esta renovación del antiguo concepto. Para este histólogo, como es sabido, el tejido nèuróglico tiene caracteres de syncitium. Está compuesto de una red protoplásmica difusa, en cuyos nudos se encuentran los núcleos neuróglicos. Estos núcleos, si

bien pueden hacerse independientes del retículo protoplásmico en determinadas condiciones, aislándose con el lote de citoplasma correspondiente, no gozan de esta autonomía en las circunstancias normales.

Gran número de histólogos é histopatólogos han aceptado estas ideas de Held. Fieandt, recientemente, con ayuda de un nuevo método, describe otra vez las redes protoplásmicas neuróglicas. En la substancia gris nos muestra un retículo finísimo y unos granos finos semejantes á los neurosomas de Held y á los microsomas vistos por muchos y por nosotros mismos en la corteza cerebral con ayuda de métodos análogos al de Altmann.

Para Fieandt, los hilos finos de este retículo representarían el mitoma neuróglico y los granos no serían otra cosa que las mitocondrias de este tejido. En prueba de esta interpretación, nos muestra el autor los mismos granos teñidos con los métodos empleados por Meeves y Benda en el estudio de las mitocondrias. En 1910, Nageotte ha hablado de las mismas formaciones, interpretándolas también como mitocondrias.

En distintas preparaciones obtenidas con el nuevo método de Cajal, con fijación al nitrato de urano, en preparaciones del propio maestro, del cerebro del gato, puestas á nuestra disposición y en muchas secciones patológicas tratadas con nuestro método del tanino y la plata amoniacal, hemos recogido imágenes de buena impregnación del protoplasma neuróglico, las cuales nos parecen dignas de publicación.

Tanto en unos como en otros casos, adquirimos pronto la convicción de que las buenas impregnaciones del protoplasma neuróglico muestran las expansiones protoplásmicas de las células de la corteza, extendiéndose y ramificándose en todo el espacio que las otras estructuras dejan libre. Entre una y otra célula neuróglica no vemos espacio libre; sus últimas prolongaciones se entrecruzan formando plexos. Acerca de que la corteza cerebral está totalmente atravesada por estructuras protoplásmicas neuróglicas, no puede caber duda alguna; pero si, en cambio, tratamos de darnos cuenta clara de si existe ó no el syncitium tal y como Held nos lo pinta, nuestras dudas no pueden ser resueltas. El aspecto que más se parecería al retículo de los autores sería el representado en la figura 1.ª (1) de una preparación con el método del tanino en la corteza humana. Sin embargo, ni aun aquí hay nada de anastomosis. Mucho menos en algunas de las preparaciones del método de Cajal, como la figura que este autor ha dado en un trabajo reciente lo demuestra.

Aparte de que estos preparados, con darnos una idea mucho más clara

(1) Por circunstancias especiales no han podido ser incorporadas á este trabajo las figuras correspondientes, que serán públicas con el artículo *in extenso* en la *Revista del Laboratorio de Investigaciones biológicas.*

del protoplasma neuróglico que las figuras de Held y Fieandt no muestren los retículos, sus imágenes difieren de las obtenidas por los métodos usados por Held por otros caracteres. En primer lugar, como Alzheimer hace muy bien notar, hay ciertos puntos de la corteza, como son las zonas profundas, en las cuales no aparece el retículo, sino en muy raras condiciones; en cambio, la zona marginal del cerebro y la substancia blanca muestran en muchos métodos apariencia francamente reticulada. Lo contrario sucede con la aplicación de estos métodos de la plata, que en la zona marginal no muestran el protoplasma neuróglico tan marcadamente como en las zonas profundas.

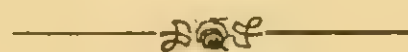
Los dibujos de Fieandt, por ejemplo, nos presentan las células neuróglicas de la corteza como rodeadas de un escaso protoplasma, el cual se resuelve bruscamente en un retículo finísimo. En cambio, si observamos una célula como la representada en la figura 2.ª, teñida con nuestro método, vemos que las ramificaciones del protoplasma son innumerables y que se extienden á gran distancia, pero que en el resolverse en ramas finas llevan un modo gradual como el que estamos acostumbrados á ver en todos los protoplasmas ramificados.

En un punto coinciden nuestras imágenes con las de Fieandt, y es en la demostración de los granos que este autor llama gliosomas y que interpreta como mitocondrias, las cuales aparecen teñidas en negro en nuestros preparados. Aunque, como hace notar Retzius en su reciente trabajo sobre la constitución del protoplasma, estas mitocondrias no son otra cosa que los antiguos microsomas y que los gránulos de Altmann, y tengan una ú otra denominación, su función es desconocida, el hecho de que un método como el del tanino y la plata amoniacal, que tan claramente tiñe las mitocondrias del epitelio renal en preparaciones de Tello y el retículo condrial de las células hipofisarias descubiertas por este autor, demuestre análogas estructuras en la corteza cerebral, es un argumento más en prueba de la interpretación de los gliosomas en el sentido de Fieandt y Nageotte.

Si, pues, esta parte de las imágenes coincide, en cambio las redes de los autores no corresponden con las imágenes que nuestros métodos dan de las ramificaciones del protoplasma neuróglico, tanto que creemos que aquí se trata de dos cosas distintas y que, por lo tanto, el retículo de Fieandt no es, por lo menos, el resultado de las ramificaciones del protoplasma neuróglico, las cuales, cuando se tiñen, tienen otro aspecto.

¿Qué interpretación dar á esas redes descritas por Held, Fieandt, Bethe y otros? Recientemente, el Dr. Simarro, por medio de métodos de su invención, ha mostrado algo semejante, pero con más regularidad y extensión. Toda la corteza aparece resuelta en una masa esponjosa en

estos preparados. Esta esponja cambia en su disposición arquitectónica en las distintas capas, pero se halla siempre unida. Tampoco estas imágenes se parecen á nuestros preparados. Nos limitaremos, pues, á consignar que hasta la fecha los métodos que mejor tiñen los protoplasmas se revelaban inermes para demostrar las redes de neuroglia, aun cuando teñían muy claramente algo del protoplasma ramificado en torno de los núcleos y que con el uso de estos nuevos métodos y habiéndose teñido estas ramificaciones en tal extensión que rellenan toda la corteza cerebral, no se parecen las imágenes á los dibujos de Held y menos á los de Fieandt, y que, por lo tanto, las estructuras que estos autores describen deben ser algo distinto á la ramificación del protoplasma neuróglico.



Otras nuevas reacciones de la espermina

POR

A. LECHA-MARZO



La microquimia espermática presenta cada día más interés y promete en un porvenir no muy lejano conquistas de valor práctico, no sólo para la medicina forense, sino también para la fisiología y la clínica.

Para demostrar nuestro aserto, recordaremos dos de los nuevos hallazgos que han sido á la vez sorpresas.

Todos los autores que durante estos últimos años habíamos estudiado la reacción de Florence, y no son pocos (Martín, Binda, Tamassia, Caneva, Ponzio, Carrara, Crux, Di Mattei, Perrando, Johnston, Posner, Duquenne, Whitney, Richter, Rotondi, nosotros, y aun olvidamos alguno) y por mi parte puedo decir que los preparados que obtuve llegan á algún centenar y que ensayé casi todos los líquidos y secreciones orgánicas, estábamos de acuerdo al admitir que un resultado negativo de la reacción de Florence no sirve para excluir el esperma y un resultado positivo tampoco sirve para afirmarlo, siendo muy numerosas las substancias que pueden dar reacción positiva. En una extensa monografía (1) hemos reunido todos los trabajos publicados sobre esta reacción, hemos referido nuestros ensayos é insistido mucho sobre los caracteres de los cristales y sobre la influencia que ejercen sobre la cristalización diversas influen-

(1) *Lecha-Marzo:* La identificación del esperma. Medios propuestos hasta el día y una nueva, rápida y segura prueba microquímica. Madrid, editor, Moya, 1907.

cias, como la edad de las manchas, la putrefacción, las temperaturas elevadas, diversas substancias, etc. Pues bien, hasta estos días, no hemos sabido, advertidos por Baecchi (1), que el reactivo yodo-yodurado de Florence produce con el esperma no sólo los cristales aciculares y tabletas rómbicas de este autor, sino otros cristales ovoidales, producidos por otro cuerpo que no es la colina, y probablemente la espermina.

Y respecto á la reacción de Barberio (que como todos sabemos consiste en la obtención de cristales amarillos muy característicos por el tratamiento del esperma humano por el ácido pícrico en solución acuosa ó picro-gomosa), cuando todos los autores afirman que la materia que provoca la reacción tiene un origen prostático, nosotros ensayamos el testículo del conejo y obtenemos con él una típica reacción de Barberio. Con esto modificamos nuestras ideas sobre el origen de la reacción y perdemos también la esperanza — y nuestros ensayos con el esperma de perro nos habían conducido á la misma conclusión — de que una prueba química tan sencilla como esta nos pueda permitir el diagnóstico diferencial de la especie animal de que procede el esperma. Pero el argumento, desde varios puntos de vista, sigue conservando su interés.

Como decíamos, Baecchi ha observado que tratando el esperma humano por una solución yodo yodurada (reactivo de Florence) se obtiene independientemente de la reacción de Florence, otra reacción cristalina, que hasta ahora había pasado desapercibida. Se obtienen cristales ó tabletas exagonales ó redondas, de color moreno marrón, con un diámetro casi igual al de los glóbulos blancos y alguna más estabilidad que los cristales de Florence. Esta reacción sería debida á la espermina, el mismo agente productor de los cristales de Barberio. Baecchi no la ha obtenido más que con la espermina y el fosfato de espermina obtenido con los cristales de Böttcher y con la espermina de Pöehl.

Distintas soluciones yodo-yoduradas pueden servir. Nosotros hemos obtenido numerosas formas redondas y exagonales con la siguiente: Yoduro de potasio, 15 gramos; agua destilada, 75 gramos; yodo á saturación.

El esperma en putrefacción ha dado la reacción aun después de varios meses (cuatro y seis) de antigüedad. Hemos observado también que los cristales de Böttcher que contiene el esperma se disgregan por la acción del reactivo y transforman en los cristales redondos y ovoidales de Baecchi.

La solución que hemos indicado colorea perfectamente los espermatozoides.

(1) *B. Baecchi:* Su di una nuova reazione dello sperma. *Bollettino della Soc. medica di Parma*, VI, 1912.

Nosotros hemos ensayado también la acción del reactivo de Bouchardat (casa Merck), que es también una solución yodo-yodurada, con esperma fresco y putrefacto. Se obtienen también dos clases de cristales: tabletas rectangulares con ángulos entrantes, muy largas, más bellas en algunos preparados que las que se obtienen con el reactivo de Florence; se obtienen también cristales redondos y color moreno obscuro; otros ovoidales, amarillos y corpúsculos movibles formados por membranas semipermeables de precipitado.

Las experiencias de Baecchi nos enseñan que estos cristales redondos y ovoidales se obtienen sólo con el esperma, y que ya con algún fundamento científico se puede hablar de la *yodospermina*. Nosotros los hemos obtenido muy semejantes con la espermina de Pöehl tratada por el reactivo de Bouchardat. El reactivo de Florence no nos ha dado los cristales característicos ni con la colina, tirosina, xantina, creatina, guanidina y urea.

Hemos pensado también si los alcaloides no pueden constituir una causa remota y posible de error.

Los Tratados de Química toxicológica insisten sobre los productos de sustitución halogénica que se obtienen tratando los alcaloides por los halógenos. Recuerdan, especialmente, los productos de sustitución yódica. «Cuando á una solución neutra ó ácida de los clorhidratos de las bases se agrega una solución de yoduro de potasio yodurado, se obtienen precipitados de color más ó menos moreno, que se pueden hacer cristalizar en condiciones especiales y se les llama yodo-alcaloides (por ejemplo: yoduros de codeína, triyoduro de cotarnina). Una parte de su yodo tiene las propiedades del yodo en libertad, y á éste son debidas sus propiedades ópticas. En algunos yodo alcaloides, como en los de morfina, estricnina y de brucina, además de yodo contienen ácido yodhídrico; estos compuestos están constituídos por el yoduro de amonio, alcaloide y además por hidrógeno y el yodo» (1).

No creíamos, pues, muy difícil que algún alcaloide ó glucósido pudiese originar con el reactivo de Florence, ó con el de Bouchardat, que nosotros hemos empleado, cristales redondos y ovoidales como los que suministra el esperma. Sin embargo, debemos declarar que los resultados se pueden considerar negativos.

La aconitina, apoatropina, apomorfina (clorhidrato), arecolina, aspidospermina, atropina, atroscina, berberina (sulfato), brucina, cafeína, chelidonina, quinina, cinconina, cocaína, colchicina, codeína, conhidrina, dionina, hidrastinina, hioscina (bromhidrato), hiosciamina, papaverina

(1) *D. Vitali:* Chimica organica farmaceutica e tossicologica. Mn. Tip editr., 1912.

(salicilato), narcotina, narceína, morfina, papaverina, fisostigmina (salicilato), pilocarpina, piperina, solanina, estricnina y tropina, no han dado cristales análogos á los del esperma. Con el nitrato de citisina bellas agujas rojas, aisladas ó agrupadas en estrellas, láminas rectangulares y cuadradas, y algunos cristales ovoides y redondos.

* * *

Creemos que debemos estudiar en este lugar una reacción publicada por De Dominicis (1) últimamente. Cuando se agrega una gota del reactivo de Dragendorff (yoduro de potasio y bismuto) á una pequeña cantidad de esperma humano líquido se produce un precipitado color naranja, que examinado al microscopio (400 á 500 diámetros), muestra muy aparentes numerosos cristales alargados, fusiformes, en cruz, cuadrangulares, ovoidales, redondeados, etc., de color anaranjado, más ó menos obscuro.

Dice De Dominicis que la semejanza de las formas alargadas con los de la reacción de Florence es ciertamente escasa; no corresponde ni á la forma ni al color; estos cristales se conservan más tiempo que los obtenidos con el reactivo yodo-yodurado.

La reacción del esperma con el yoduro de potasio y bismuto se obtiene mejor en frío; si se somete el preparado á un comienzo de ebullición, se producen formas rómbicas y exagonales, no observándose estas últimas en la reacción que se obtiene en frío.

La putrefacción del esperma influye bastante en los resultados obtenidos, y generalmente los cristales son más pequeños.

Sobre la génesis de los mismos, su autor observa que si se extrae esperma humano líquido con alcohol, el residuo, después de evaporación del alcohol, da precipitado obscuro con el reactivo de Dragendorff y con el miscroscopio se observa un precipitado de aspecto cristalino, pero sin formas bien definidas. Si se somete este preparado á un comienzo de ebullición y se enfría en seguida en una superficie metálica, el examen microscópico demuestra la existencia de numerosas formas exagonales de color naranja y obscuras.

El precipitado determinado por el alcohol en el esperma disuelto después en agua, da con el reactivo de Dragendorff un precipitado de color naranja y muestra al microscopio formas cristalinas del mismo color; sometiendo el preparado á un comienzo de ebullición se obtienen formas rómbicas de color naranja bastante regulares.

De Dominicis cree que la reacción es debida á la espermina, y que las

(1) *A. De Dominicis:* Su una nuova reazione dello sperma. *Il Cesalpino*. Arezzo, Julio 1912.

formas exagonales que se obtienen con dicho reactivo en caliente son debidas á la colina. Nosotros, con colina Merck al 1 por 100, tratada por el reactivo Dragendorff, obtuvimos cristales negros y redondos; con la espermina de Pöehl, hemos obtenido láminas redondas y algún bastoncito, todos de color rojo intenso.

Algunas veces, con esperma putrefacto, no hemos obtenido más que los cristales redondos, que se pueden atribuir á la colina, siendo, por lo tanto, la reacción poco característica en estos casos.

* * *

En nota preventiva debemos señalar que hemos ensayado con el esperma humano otro de los reactivos de los alcaloides, el reactivo de Mangini. Puedo considerar esta nueva reacción como una de las más bellas que suministra el esperma humano, superior á la reacción de Florence-Baecchi, á la cristalización que se obtiene con el reactivo de Dragendorff y á la prueba del tribromuro de oro.

Con el reactivo de Mangini y el esperma líquido humano, hemos obtenido láminas cuadradas, otras exagonales, romboidales, algunas muy largas y también largos rectángulos y láminas terminados en punta; se asiste también á la formación de numerosas láminas redondas y ovoidales, todos de color rojo-granate. La observación microscópica la hemos hecho también á 500 diámetros. Las diversas muestras de esperma ensayado, algunas en putrefacción avanzada, dieron siempre toda esta variedad de formas cristalinas.

Por los ensayos que llevamos realizados, nos inclinamos á admitir que es la colina la substancia que origina las láminas cuadradas y rectangulares. Sería la espermina la substancia productora de las formas ovoidales.

* * *

En otra ocasión, con Welsch (1), hemos estudiado ya la reacción del tribromuro de oro, propuesta por De Dominicis (2), en 1910. Dicho reactivo origina en el esperma la formación de numerosos cristales, de color rojo granate, cuadrados unos, alargados y apuntados otros, y menos intensamente coloreados éstos. Las formas cuadradas son debidas á la colina (Peset, Dominicis y nosotros); las formas apuntadas guardan mayor relación con el agente productor de la reacción de Barberio, la espermina.

(1) *Welsch* y *Lecha-Marzo:* Contribution à l'étude de la microchimie du sperme. *Archives Internationales de Médecine légale*, 1912.

(2) *De Dominicis:* Nuova reazione dello sperma. *Risveglio Medico*, 15 Mayo 1910; *Soc. di Med. leg. di Roma*, 1911; *Arch. Intern. de Méd. lég.*, 1912.

La reacción, muy bella, es poco sensible, como lo reconoció el mismo Dominicis. Las formas alargadas faltan á veces. Por esto nosotros hemos propuesto, con Welsch, la modificación siguiente: tratada la gota de esperma por el tribromuro de oro y conseguida la formación de los cristales cuadrados y algunos alargados, ó muy escasos, después de cierto tiempo se deja pasar entre las dos láminas una gota de solución de ácido pícrico al 1 por 100 y se asiste á una segunda cristalización. Se creerá que esta última está constituída por cristales de Barberio, formados por parte de esperma á los que no ha llegado el tribromuro de oro; pero también es verdad que si se observan las partes invadidas por el tribromuro, se asiste á la aparición entre los primitivos cristales cuadrados de otros alargados, color amarillo rosado y otros color granate; también maclas cruciales y otras formas que no suministra el tribromuro de oro.

De Dominicis nos ha comunicado su opinión: «Me dediqué á repetir el experimento con el tribromuro de oro y el ácido pícrico, y puedo confirmar plenamente los hechos que habéis observado: la reacción es más intensa y aparecen formas que no se obtienen con el tribromuro de oro solo. Diría, casi, que el ácido pícrico parece obrar como *mordiente* para el tribromuro de oro; con lo cual, no trato de excluir que también el ácido pícrico pueda entrar en combinación».

* * *

Nosotros no insistimos aquí sobre la reacción de Barberio, á la cual hemos dedicado ya otras monografías (1).

Y antes de concluir sobre el valor médico-legal de la microquimia espermática, nosotros esperamos más definitivos ensayos. Las rectificaciones dadas á cuestiones, dentro de este mismo argumento, que creíamos ya definitivamente juzgadas, nos inclinan mucho á la prudencia, pero de ninguna manera á negar el valor de todos estos estudios. A los que esto último hacen, nosotros les recordaríamos que estas mismas rectificaciones nos han dado á conocer pruebas, nos han enseñado especificidades que la mayoría estábamos lejos de sospechar. De todas maneras nosotros no tardaremos en tratar de precisar el valor médico-legal de esta microquimia espermática. No vemos en ella una fuente de reacciones que puedan suministrar al experto las pruebas de una certidumbre absoluta, pero en ocasiones pueden dar datos de más valor que las llamadas «reacciones de posibilidad».

(1) Loco citat., págs. 59-81. — La prueba de Barberio en el diagnóstico médico-legal de las manchas de esperma. *Revista de Chimica pura e applicada*, núms. 9-11, 1907. — Los cristales de Barberio. Respuesta al Dr. Baecchi. *Sociedad de Biología*. Madrid, 1913

Con De Dominicis (1), opinamos que el criterio microquímico puede ayudarnos para la resolución de cuestiones relativas á la eyaculación. Cuando es negativo ó incompleto, es favorable para excluir la muerte después del coito. Cuando es positivo de una manera típica, para concluir, se debería tener en cuenta la cantidad del esperma eyaculado (contenido uretral y manchas extensas). Aun no considerando nuestras conclusiones como decisivas en absoluto, hay datos que se pueden recoger y hechos que se pueden interpretar de manera que no esté privada de significado.

Queremos recoger también aquí otra cuestión interesante. Recientemente, F. Mainoiloff (2), en cuatro asmáticos con grandes accesos extrajo sangre que después de la centrifugación inmediata inyectó á cobayas y conejos por la vía intravenosa y por la vía hipodérmica, y en dosis de 2 á 3 centímetros cúbicos. Cuarenta y ocho horas después inyectó á los mismos conejos de 1 á 2 cent. cúb. de una solución de cristales de Charcot-Leyden, suministrados por la expectoración de los asmáticos, cuyo suero había servido para *preparar* á los animales; esta inyección de solución de cristales de Charcot-Leyden, desencadenó las manifestaciones anafiláxicas características: hipotermia, disnea, paraplegia, emisión de orina y de materias fecales. La muerte sobrevino á los pocos minutos. Se observó enfisema pulmonar y congestión de las vísceras abdominales. Los animales testigos preparados con el suero de individuos no asmáticos, no presentaron estos trastornos después de inyectarles la solución de cristales de Charcot-Leyden.

Landouzy refiere estos experimentos al estudiar las relaciones del asma y la bacilo-tuberculosis, y la hipótesis que considera el acceso asmático como crisis anafiláxica.

Recordemos ahora nosotros que hace años sostuvimos que los cristales de Charcot-Leyden dan reacciones análogas á las de Böttcher (constituídos estos últimos por el fosfato de espermina), y que Fraenkel y Müller (de Berlín) confirmaron nuestras observaciones.

Y conociendo estas analogías, estudiaremos muy pronto si los cristales de Böttcher producen también el choque anafiláctico en cobayas preparados con suero del mismo individuo.

Trataremos también de estudiar el papel que desempeña, en las experiencias ordinarias de anafilaxia espermática, el fosfato de espermina en la preparación de los animales y en el desencadenamiento.

(1) *De Dominicis*: Questioni relative all'eiaculazione e reazione del bibromuro d'oro. *Archivio di Psichiatria*, fascículo IV, 1912.

(2) Citado por Landouzy en Anafilaxia y tuberculosis. *Semana Médica*, 27 Febrero 1913.

Y esta microquimia espermática puede interesarnos más desde otros puntos de vista, porque nos ha dado á conocer estas propiedades cristalogénicas de la *espermina*, base amidada de constitución química muy discutida. Como lo hemos dicho en otra ocasión, esta vez la medicina legal sirvió á la química.

Una serie numerosísima de trabajos, aunque ya un poco antiguos, y por esto demandan revisión, probó las interesantes propiedades fisiológicas de este cuerpo. Trabajos más modernos, entre ellos los de nuestros compatriotas Serralach y Parés (1) han elevado el papel de la próstata en la fisiopatología sexual. Y para De Dominicis (2), la espermina que hoy demostramos con estas pruebas microquímicas sería el constituyente químico fisiológico más importante del líquido prostático, y la espermina sería también la secreción interna de la glándula, teniendo bajo su dependencia la génesis y continuidad del impulso sexual. Y al encontrarse este cuerpo, aunque en menor proporción en el testículo y los demás órganos, las excepciones y muchos hechos provocados en los experimentos que sobre la fisiología de la próstata se han llevado á cabo en estos años podrían explicarse por fenómenos de compensación.

Creemos que la nueva fisiología de las glándulas genitales deberá recoger algunos de los datos expuestos.

No se trata de probar otra vez que el testículo ó que la testiculina activa la secreción prostática y, viceversa, que la secreción prostática activa la espermatogenesis y toda la vida del testículo. Se trata ya de aislar el secreto de la próstata ó la substancia, que es á la próstata lo que la adrenalina es á las cápsulas suprarrenales; de repetir con este cuerpo aislado en estado de mayor ó menor pureza lo que hicieron ya los fisiólogos con los extractos de la próstata, repetirlo nosotros con el cuerpo aislado, intentar también otras experiencias; tratar de ver las aplicaciones posibles á la clínica. Tal vez hemos encontrado ya la explicación de que los ensayos de Poehl no tuvieran todo el éxito esperado, porque los órganos y las especies que utilizó no fueron las más útiles por contener muy escasa cantidad de espermina.

Hoy el camino puede ofrecer menos dificultades. Es verdad que seguimos desconociendo la naturaleza química exacta de estas substancias, pero hay ya otros hechos que nos invitan á una experimentación inmediata: 1.° Las pruebas microquímicas descritas demuestran que el esperma ó,

(1) *Serralach y Parés:* Las glándulas sexuales del hombre y su nueva fisiología. Memoria de la Real Academia de Medicina de Barcelona. *Annales des Maladies des organes genito-urinaires.*

(2) *De Dominicis*: Sur la fonction de la prostate. *La Province Medicale*, número 23, 1909.

mejor, la próstata, diferenciándose en esto del resto de los líquidos y jugos orgánicos, contiene una substancia capaz de originar precipitados cristalinos característicos con los reactivos de alcaloides, y es de presumir que un cuerpo que tiene estas propiedades no esté desprovisto de interés para la fisiología. 2.º Conocemos ya, además de estas propiedades, las condiciones de solubilidad en los distintos medios. 3.º No disponiendo de próstatas frescas de individuos jóvenes, hay que utilizar próstatas de animales. Nuestros ensayos, confirmados extensamente por los de Dominicis, demostraron que la próstata del perro es de las próstatas animales la que contiene mayor cantidad de espermina.

Y, finalmente, nosotros proponemos la microquimia espermática como medio auxiliar de investigación clínica. Deberá interesar á los clínicos en los casos de aplasia, de atrofia de la próstata, prostatitis crónica, diabetes, etc. Y no sólo en los casos de hiposecreción, sino también en los casos de hipersecreción prostática (afecciones medulares, constipación, mansturbación, falsos coitos, etc.).



Sobre una nueva prueba química de la sangre propuesta por Ganassini

POR

A. LECHA-MARZO y CL. AZNAR

Después de haber estudiado en el laboratorio los llamados métodos colorantes para el diagnóstico médico legal de la sangre, como otros autores hemos podido concluir que su valor es muy escaso. Si pueden ser aceptadas como medio de investigación en la clínica, para la medicina legal son únicamente reacciones de posibilidad. Recordaremos que la antigua reacción de Van Deen á la tintura de guayaco, si es positiva no permite afirmar la presencia de sangre, y, si por el contrario, es negativa, no permite excluirla, porque la sangre vieja ó putrefacta y ciertos derivados de la hemoglobina no dan la reacción. La reacción por la tintura de aloína se presta á la misma crítica. La reacción de Riegler (con el sulfato de hidrazina) no es específica si la consideramos solamente como tal reacción colorante. La reacción á la bencidina, de Adler, presenta también pocas ventajas sobre las anteriores, lo que sucede también con la reacción de la parafenildiamina propuesta por Boas. La prueba de la fenolftalina de Meyer, positiva también con algunas otras substan-

cias que no son sangre, en opinión de Dervieux (1) es infinitamente más peligrosa que la reacción Van Deen, no sólo porque presenta los mismos inconvenientes, sino también porque su sensibilidad traspasa los límites de una reacción puramente electiva de la sangre. La prueba de la fluoresceína de Fleig ha sido objeto de las mismas críticas.

Sin embargo, aun en estos días, en Revistas, en Sociedades y Congresos científicos se habla del valor de estas reacciones, considerándolas como pruebas de probabilidad, cuando en realidad su valor es mucho más reducido. Autoridades indiscutibles de la medicina legal, en alguna ocasión llegaron á la afirmación de que algunas de estas pruebas podía destronar y sustituir á los procedimientos de certidumbre en la investigación de la sangre. Como una reacción da resultados positivos con un determinado material que no contiene sangre, se ha recomendado el ensayo inmediato del material sospechoso con otro método colorante que no presenta esta causa de error, pero aquí se olvida que ninguna de las reacciones que acabamos de citar presenta una causa de error, sino varias, y que, por lo tanto, no han sido excluídas con la prueba complementaria.

En estos días se ha estudiado otra nueva reacción colorante, que parece ser más específica que las anteriores. Pero también se ha dicho que la nueva prueba no servirá sólo para reforzar la prueba de los cristales de hemina y las pruebas espectroscópicas y cristalográficas, «sino que en algunos casos podrá sustituirlas, especialmente cuando la cantidad de sangre disponible sea demasiado exigua» (Ganassini).

La nueva reacción química ha sido propuesta por Ganassini (2) y después estudiada por Bellussi, y desde el punto de vista clínico por Fava y Vercesi. Las conclusiones de Bellussi difieren en algún punto de las del autor de la reacción. Por el estudio que nosotros hemos hecho, nos hemos convencido que otras observaciones pueden hacerse.

Siguiendo los consejos del autor, hemos preparado el reactivo disolviendo 20 centigramos de eosina pura cristalizada en 200 gramos de potasa cáustica al 20 por 100; á la solución así obtenida hemos agregado 55 cent. cúb. de ácido clorhídrico puro (densidad 1'19) y de esta manera obtuvimos un precipitado amarillo-naranja que disolvimos, previo lavado en agua destilada, en 25 cent. cúb. de alcohol de 95°. El reactivo tiene color amarillo naranja con fluorescencia verde.

(1) *Dervieux:* Congrès Intern. de Médecine légale de Bruxelles, 1910.

(2) *D. Ganassini:* Società Medico-Chirurgica di Pavia, 1912.—*A. Fava y C. Vercesi:* Idem, pág. 190, 1911. — *A. Bellussi: Archivio di Antropologia Criminale e Medicina legale*, fascículo VI, Noviembre-Diciembre 1911. — *Ganassini: Idem*, fascículo III, Mayo-Junio 1912.

Cuatro centímetros cúbicos de la disolución de la mancha sospechosa, tratados en un pequeño tubo por dos gotas de reactivo y dos gotas de potasa cáustica (20 por 100), dan origen á una coloración azul índigo, que se transforma en amarillo oro inmediatamente, al agregar una gota de agua oxigenada al 5 por 100, si el material que sometemos al ensayo contiene sangre.

Se puede ensayar el reactivo sobre manchas de sangre en tela, madera, cartón, observándose que, una pequeña gota de reactivo en contacto con la mancha, se torna azul agregando potasa cáustica al 20 por 100, coloración que el agua oxigenada transforma en amarilla.

Ni la putrefacción ni otros factores que pueden ejercer acción sobre la sangre, ni los disolventes ordinarios de las manchas (potasa, sosa al 10 por 100, amoníaco comercial, soluciones de cloruro de sodio, etc.), impiden la reacción descrita.

Ni líquidos orgánicos que no contengan sangre, ni los jugos vegetales, ni diversas disoluciones de sales metálicas, suministran una reacción análoga á la sangre (Ganassini, Bellussi, nosotros).

Sin embargo, una excepción ha sido señalada. Bellussi obtuvo reacción positiva con las sales de cobre y cobalto con soluciones diluídas de estos metales, con lo que reducía á proporciones mínimas el precipitado de hidrato de cobre que produce la potasa cáustica, la coloración amarillo-naranja se observaba de una manera rápida y evidente, y en la misma unidad de tiempo y con la misma intensidad que cuando se trata de sangre. La reacción no se observa solamente con las soluciones muy débiles de estas sales, sino también con las manchas obtenidas en tela con soluciones de estas sales. Y concluía Bellussi que otra vez se pierde la esperanza de la existencia de una reacción química especial para la sangre.

Nuevamente Ganassini ha vuelto á estudiar la cuestión, concluyendo que es verdad que el sulfato de cobre se comporta con su reactivo de la misma manera que la sangre, pero esto no sucede cuando se realizan todas las condiciones que fueron descritas en su primer trabajo, y que nosotros hemos anotado más arriba. Tal como hemos aconsejado poner en práctica la reacción, las soluciones de sulfato de cobre al 1 por 1.000 y al 1 por 5.000 cambian el color azul en amarillo de oro pasados dos minutos, y, por el contrario, con la sangre este cambio es casi instantáneo. Concluye también que la rapidez de la reacción con las soluciones de sulfato de cobre al 1 por 1.000, crece con el aumento de la cantidad de álcali cáustico.

Sin embargo, hay que anotar que este mismo autor, en otra parte de su segundo trabajo, asegura que sobre el papel de filtro las manchas pro-

ducidas por soluciones concentradas de sulfato cúprico se coloran rápidamente en contacto del reactivo en amarillo sucio, y en este caso la reacción recuerda, hasta cierto punto, la de las manchas de sangre, y agrega que el sulfato de cobre, y en general las sales solubles de cobre y también el carbonato y el hidrato, dan una reacción idéntica á la de la sangre, pues la potasa cáustica usada en gran cantidad disuelve en parte el hidrato cúprico, formando un óxido doble de potasio y de cobre soluble en el agua, con una coloración azul poco intensa, y es precisamente este compuesto el que presenta la misma propiedad que la hemoglobina y la hematina, de volver amarillo oro, casi instantáneamente, el reactivo de Ganassini.

Cuando las sales de cobre — continúa el autor — se encuentran bajo la forma de albuminato ó de manchas fijadas sobre las fibras de un tejido, y el cobre ha perdido su carácter de ión simple, habiendo entrado á formar parte de iones complejos, entonces, aun empleando un gran exceso de potasa cáustica, no se forma el óxido doble de potasio y de cobre y falta la reacción análoga á la de la sangre.

Siendo este el estado actual de la cuestión, nosotros hemos dado comienzo á nuestros ensayos, y nos hemos convencido en seguida de que la reacción de Ganassini presenta algunas dificultades en su técnica, ó mejor en la interpretación de los resultados. Llevando á cabo los ensayos del mismo modo que los autores que nos precedieron, en bastantes casos nosotros hemos sacrificado un material sanguíneo importante; hemos puesto en práctica la reacción, y terminada ésta, como es fugaz, nos hemos considerado sin elementos suficientes para afirmar si la reacción es positiva ó negativa. La reacción en tubo de ensayo resulta menos neta que sobre fondo blanco, y una vez obtenida la coloración amarilla no es posible, por lo menos nada indican los autores que nos han precedido, un nuevo ensayo sobre el material sospechoso.

Para vencer estas dificultades nosotros proponemos una nueva técnica.

En un platillo de porcelana depositamos 4 cent. cúb. de la solución sanguínea, agregamos dos gotas de la solución de potasa al 20 por 100 y una gota de agua oxigenada al 5 por 100 é inmediatamente una gota del reactivo eosínico. Esta última cae sobre el centro, un poco elevado del platillo; se forman entonces una serie de ondas concéntricas y de color azul, que vira casi instantáneamente al amarillo de oro. Dejamos caer otra gota del reactivo de Ganassini, y el fenómeno que se observa es idéntico, y así, con nuevas gotas de este reactivo, repetimos la experiencia varias veces. El líquido adquiere siempre un color amarillo oro intenso.

Pequeñas variaciones en la cantidad de los reactivos no han influído en

la reacción. Cuando se han agregado ya varias gotas del reactivo, conviene añadir otra nueva de agua oxigenada.

Con la saliva y el orín las diferencias son muy netas.

Ni las soluciones de cloruro de sodio, ni las de yoduro de potasio impiden la reacción; lo mismo podemos afirmar de las soluciones de cianuro de potasio. Por el contrario, el ácido acético y las soluciones de bicloruro de mercurio ejercen acción impeditiva.

Con las soluciones de sulfato de cobre al 1 por 1.000, siguiendo la técnica indicada, la diferenciación es fácil por la coloración azul que provoca la potasa cáustica, que el agua oxigenada vuelve amarilla, antes de agregar el reactivo de Ganassini. Por el contrario, con las soluciones de sulfato de cobre al 1 por 5.000 la reacción que hemos observado es muy parecida á la que suministra la sangre.

Hemos ensayado también la reacción con soluciones de sales cobálticas. Las soluciones de cloruro de cobalto, aun diluídas, se diferencian fácilmente de las soluciones sanguíneas por los precipitados que aquéllas producen por la acción de la potasa y del agua oxigenada.

Lo mismo podemos afirmar de las soluciones de sulfato de cobalto. Con soluciones al 1 por 5.000 los precipitados son muy ligeros ó faltan, y la reacción de Ganassini no es típica.

Las soluciones de nitrato de cobalto al 1 por 1.000 se diferencian también por los precipitados. Con soluciones al 1 por 5.000 la reacción es dudosa.

Con manchas de nitrato de cobalto, en solución al 1 por 1.000, la reacción de Ganassini fué positiva. Con soluciones más diluídas la reacción es negativa.

Por lo tanto, en espera de nuevos y definitivos ensayos hay que reservarse al juzgar el valor médico-legal de la nueva reacción de la sangre. El mismo Ganassini aconseja, para demostrar la presencia de los compuestos de cobre, sustituir el agua oxigenada en su reacción por el cianuro de potasio al 5 ó 10 por 100, con lo cual se obtiene una reacción típica, como la que suministra la sangre, mientras ésta no da la reacción en estas nuevas condiciones.

Para conseguir esta diferenciación, se podía ensayar también la prueba de la bencidina, que es negativa con las sales de cobre; pero si sometemos dos muestras del material sanguíneo al ensayo de pruebas que no dan certidumbre, corremos el riesgo de que se nos recuerde la frase de Leers: «la mejor investigación preliminar de unas manchas de sangre se hace con una buena lupa y ojos perfectamente ejercitados».

De todas maneras, se puede concluir que la prueba de Ganassini, dentro del interés que puede concederse á las pruebas colorantes de la san-

gre, merece la máxima atención. Si no se puede admitir por su resultado positivo la certidumbre absoluta de la existencia de la sangre, es mucho más específica que las otras reacciones colorantes.

Y con Fava y Vercesi la concedemos más valor en la clínica, que exige más prontitud y menos certidumbre que la medicina forense.

(Laboratorio de Medicina legal de la Universidad de Madrid; Director: Prof. T. Maestre).



El ácido fosfo-molíbdico reactivo del esperma

POR

A. LECHA-MARZO

En 1907, Bokarius (1) en un trabajo sobre la reacción de Barberio, señaló la posibilidad de obtener con el esperma humano tratado por el ácido fosfo-túngstico cristales semilunares característicos, merecedores de la atención de los expertos.

«Misch man einen Tropfen konzenbriertes wässirige Lösung von Acid phophowolframicum mi einem gleichfalls wässrigen Auszuge eines menschlichen Spermafleckes, so sietzt man im Mikroskop bei einer vergrösserung von 500 sehr vide semilunare farblose und klare Peättchen, welche bei einer vergrösserung von mur 100 wie kleine, schmale, dunkle Stäbchen erscheinen. Alle haben eine über einstimmende Form. Mitkeiner anderen Substanz (vaginal und Nasenchleim, einigen Alcaloiden und reinen chemischen Produkten) habe ich etwas Aehnliches bekomnen können Gute Präparate erzielt man, wen mandie oben erwähnte Lösung mit and aceticum ausauerst».

Estas breves observaciones del autor ruso, en las que daba á conocer una nueva prueba microquímica del esperma no fueron recogidas en ninguna de las monografías publicadas después sobre este argumento tan interesante de la microquimia del esperma. En 1912, nosotros, en un trabajo hecho con la colaboración del profesor Welsch, de Lieja (2), nos referimos ya á la reacción de Bokarius: «Hemos ensayado esta reacción con esperma líquido y putrefacto y con manchas de esperma procedentes

(1) *N. Bokarius:* Ueber einige mikrochemische Reaktionen des Spermas *Viertelj. f. ger. Med.*, 3 Folge, XXXIII, 2, 1907.

(2) *H. Welsch* y *A. Lecha-Marzo:* Contribution à l'étude du microchimie du sperme. *Archives Internationales de Médecine légale,* 1912.

de diversos casos de violación. Hemos observado las formas descritas por el autor y otras semejantes á las tabletas de colesterina, y en bastantes casos faltaban, á pesar del origen espermático de las manchas. Y, por el contrario, siempre hemos obtenido unos glóbulos blancos, brillantes, que recuerdan bien á las perlas. Hilos sospechosos daban origen, en contacto con el reactivo, á numerosos corpúsculos de estos que acabamos de señalar». Y agregábamos, en seguida, que por el momento la reacción no nos parecía muy interesante.

Ahora hemos encontrado nosotros otra nueva prueba microquímica, que sometemos á la atención de los estudiosos. La obtenemos con el ácido fosfo-molíbdico (al 10 por 100 Merck), reactivo que nos había servido ya en otras ocasiones en nuestros trabajos de microquimia alcalóidica (1). Nosotros hemos demostrado, y ha sido confirmado por De Dominicis, Obregón, González Carrascal, Deniges y otros, que los cristales de gran número de alcaloides, en lugar de originar productos cristalinos cuando son sometidos á la acción de este reactivo, se rodean de una membrana semipermeable de precipitado y dan origen á bellos crecimientos osmóticos.

La reacción que el ácido fosfo-molíbdico provoca con el esperma, como la mayoría de todas estas reacciones, se obtienen en frío, y la manera de proceder es muy sencilla.

Llevamos una gota de esperma, fresco ó putrefacto, de varias semanas ó meses de antigüedad al porta-objetos, aplicamos el cubre-objetos y entre las dos laminillas hacemos pasar una gota del reactivo fosfo molíbdico. Cuando tratamos de ensayar una mancha, se humedece con agua destilada una parte del tejido manchado, y pasado algún tiempo se pliega y exprime sobre el porta-objetos, entre el pulgar y el índice. De esta manera disponemos ya de un material concentrado, que se puede hacer aún más denso por evaporación á un calor suave.

Inmediatamente se observa la aparición de un precipitado blanco, que

(1) *Lecha-Marzo:* Una extraña metamorfosis de los cristales de cinconina en el reactivo de Sonneschein. *Revista de Medicina y Cirugía prácticas*, Marzo 1907.—Nuevas investigaciones sobre la metamorfosis de los cristales de alcaloides en los ácidos fosfo-molíbdico y fosfo-túngstico. Societé de Médecine légale de France, 5 Abril 1909; *Revue de Médecine légale*, 1909.—Microquimia tossicologica. La pseudo-germinazione degli alcaloide. *Arch. di Psich. Med. leg.*, tomo XXX, 1909.

Cuando se trata por el agua regia el fosfo-molibdato amónico, se oxida el amonio y se obtiene una disolución de ácido fosfo molíbdico. Este ácido fosfo-molíbdico tiene por fórmula $H_3PO_4.12MoO_3 6H_2O$. Es amarillo cristalino y muy soluble en el agua. Forma con los cuerpos del tipo del amoníaco sales insolubles en el agua y es empleado por esta razón en la investigación de los alcaloides.

El anhídrido túngstico, WO_3, se combina en proporciones variables con el ácido fosfórico, dando origen á un ácido fosfo-túngstico, $H_3PO_4.12WO_3$, análogo al ácido fosfo-molíbdico. (Fred. Swarts: Cours de Chimie inorganique, páginas 639-641. Gante, Hoste, 1908).

puede tornarse verde y hasta azul. La reacción, aunque en frío, requiere algunos minutos para completarse. Entonces el examen microscópico (500 diámetros) demuestra la existencia de numerosos cristales. Aquellos que nosotros consideramos como más característicos del esperma son bellas láminas exagonales (véase la microfotografía) sueltas ó agrupadas, y pueden observarse cristales que recuerdan algo á los de Barberio: unos de forma rómbica, otros en disco redondo y las formas ovoidales intermedias entre estas dos formas.

Los redondos presentan á veces una estriación radiada, pueden encontrarse también cristales geminados en cruz ó en estrella. Además, todo el resto del campo microscópico aparece lleno de glóbulos amarillos. Unas formas cristalinas son incoloras, otras amarillas, otras amarillo-verdosas, pero de todas maneras el examen microscópico siempre es fácil.

Los cristales exagonales resisten bastante bien la acción del cloroformo. La potasa los vira en azul claro, y contribuye á originar nuevas formas cristalinas (1).

Los cristales que se obtienen en esta reacción se pueden conservar en bálsamo del Canadá, previo un rápido lavado en xilol. En las preparaciones antiguas se observan cambios de coloración en los cristales.

Esperma en putrefacción que contenía numerosos cristales de Böttcher suministra todas las veces ensayadas una reacción positiva. Y esperma también putrefacto conservado líquido en nuestro laboratorio durante varios meses ha dado la reacción, aun la parte líquida; con esta última se obtuvieron cristales exagonales, de bordes dentados, algunos semejando hojas y cristales ovoidales y aciculares, y numerosos glóbulos amarillos.

Hemos obtenido reacción negativa con la saliva y el orín. Con el último se observan cubos y agujas sueltas fáciles de distinguir de los cristales que suministra el esperma.

También los jugos vegetales (manzana, pera, naranja, etc.) han dado resultado negativo.

También podemos anunciar que los cuerpos resultantes del desmoronamiento de las albúminas no nos parecen causa de error. Ni la guanidina (que Peset defendió como agente productor de la reacción de Barberio) (2), ni la creatina, ni la urea, ni la tirosina, originan precipitados cristalinos con el ácido fosfo-molíbdico; las láminas cuadradas que hemos obte-

(1) Es muy interesante la observación microscópica de la acción de la potasa sobre el ácido fosfo-molíbdico, sin agregar ningún otro material.

(2) *Peset:* Agente productor de la reacción de Barberio. Congreso de las Ciencias de Zaragoza, 1908.

nido con la santina, y las agujas amarillas agrupadas en estrellas que hemos obtenido con la colina (al 1 por 100) tratándolas por el ácido fosfomolíbdico, se distinguen inmediatamente de los cristales del esperma.

Sabíamos ya, por nuestros antiguos ensayos, que el reactivo fosfo-molíbdico da origen con los alcaloides y glucósidos, sólo con muy contados, á precipitados cristalinos. Además, ya en los Tratados de Química toxicológica (1) se hablaba ya del precipitado *amorfo* blanco, sensibilísimo, que se obtiene sometiendo los alcaloides por el reactivo fosfo-molíbdico. Ahora, en los nuevos ensayos, hemos vuelto á observar la facilidad con que este reactivo origina los crecimientos osmóticos.

Ni la aconitina, apomorfina, arecolina, atropina, berberina (sulfato), brucina, cafeína, chelidonina, quinina, cinconina, cocaína, colchicina, codeína, conhidrina, citisina (nitrato), dionina, hidrastinina, hioscina bromhidrato), hiosciamina, papaverina (salicilato), narcotina, narceína, morfina, fisostigmina, pilocarpina, piperina, solanina, estricnina, tropina y otros dieron resultados en nada comparables á la reacción del esperma (2).

Por los ensayos preliminares que llevamos hechos con el esperma líquido, con los cristales de Böttcher y la espermina de Poehl, nos inclinamos á la admisión de que la espermina interviene en la génesis de la reacción que estudiamos. La colina no ha dado formas parangonables á las que da el esperma, y por el contrario, la espermina de Poehl ha originado los discos redondos, tabletas cuadradas y alguna exagonal.

El testículo del conejo, que según nuestros más recientes ensayos suministra reacción positiva de Barberio, da origen lentamente á numerosos glóbulos amarillos y tabletas cuadradas y rectangulares muy largas. Por consiguiente, el jugo testicular del conejo da la reacción un tanto modificada.

Aunque todos estos resultados son muy favorables, nosotros esperamos nuevos ensayos para emitir opinión sobre el valor médico-legal de la nueva reacción. De todas maneras, creemos seguro su interés para el fisiólogo, y aun para el clínico, ya que en un porvenir próximo la investigación de la espermina será de utilidad en la resolución de problemas que no están comprendidos en el marco de la medicina forense.

(1) Véase *D. Vitali:* Chimica organica, farmaceutica e tossicologica. Un. Tip. Editr. Turín, 1912.

(2) Obtuvimos crecimientos osmóticos con la aconitina, apomorfina, atropina, brucina, quinina, cinconina, cocaína, colchicina, dionina, hioscina, morfina, solanina y estricnina.

(Laboratorio de Medicina legal de la Universidad de Madrid; Director: Prof. T. Maestre).

La reacción de Ehrmann en el suero de los basedowianos simpaticotónicos y vagotónicos

POR

G. MARAÑÓN

Varios autores (Kraus y Friedenthal, Fraenkel, Salzer y Wilenko, Wirtz, Kostlivy, etc.) han observado que en el suero de los basedowianos existe una cantidad de substancias midriásicas superior á la del suero del individuo normal ó afecto de otras enfermedades.

Los autores citados, y otros que han aceptado sus conclusiones, identificando esas substancias midriásicas con la adrenalina, suponen que la hiperadrenalina, el exagerado funcionamiento de las suprarrenales, juega un papel importantísimo en la patogenia del mal de Basedow.

Un punto dudoso previo se presentó á la consideración de los investigadores: puesto que otras substancias, además de la adrenalina, son capaces de dilatar el ojo de la rana enucleado, ¿no podrían ser ellas, y no la adrenalina, los productores de la reacción? La sospecha adquiría, en el caso del mal de Basedow, un aspecto intenso de verosimilitud, considerando que, según todos los datos actuales, dicha enfermedad es un hipertiroidismo y precisamente el extracto de tiroides posee acción midriásica, como demostraron Catapano, Bittorf y nosotros mismos. Era, pues, lógico pensar con Bittorf, que la acción midriásica del suero de los basedowianos se debía, no á un exceso de adrenalina en la sangre, sino á un exceso de substancias tiroideas vertidas por esta glándula en hiperfunción.

Nosotros consagramos á dilucidar este punto una nota, en esta Sociedad (1), demostrando que la reacción midriásica de la sangre de los basedowianos no debía ser producida por el tiroides, puesto que: 1.°, la midriasis producida por el extracto de tiroides difiere, por su constancia é intensidad, de la del suero de los basedowianos; y 2.°, el tiroides de los basedowianos con reacción de Ehrmann positiva en el suero, puede no ser midriásico. Sobre todo, este argumento que realizamos investigando la acción midriásica del extracto de tiroides extirpado á basedowianos, cuya sangre habíamos analizado previamente, nos parece de

(1) Boletín de la Sociedad Española de Biología, tomo I, pág. 114.

un valor definitivo. Podemos, pues, admitir que la adrenalina es la substancia que comunica esa acción á la sangre de estos enfermos.

Según la teoría expuesta, el exceso de función tiroidea produciría una irritación del sistema cromafino, que fabricaría más adrenalina que normalmente. Por esta razón, además de la adrenalina (substancias midriásicas en la sangre) aparecen otros fenómenos debidos al mismo origen: tales son la *glucosuria adrenalina*, que normalmente no se produce sino cuando la inyección de 1 miligramo de la substancia va precedida de la ingestión de una determinada cantidad de glucosa; y en los basedowianos se produce, sin glucosa previa, sólo por la inyección de $^1/_2$ ó de $^1/_4$ de miligramo, hasta el punto de que este hecho ha sido propuesto por Aschner (1) para el diagnóstico de los casos dudusos de mal de Basedow. Esta sensibilidad para la glucosuria adrenalínica indica, como se comprende, una sobrecarga del organismo de adrenalina, apareciendo la intolerancia—glucosuria—por la sola acción de una dosis mínima. Usando una comparación vulgar, podría decirse que la corta dosis que inyectamos es la gota que hace rebasar el vaso lleno hasta los bordes. En otros casos, la cantidad de adrenalina del organismo es aún mayor y entonces, espontáneamente, aparece la glucosuria. Estos son los casos observados por todos los autores, de basedowianos glucosúricos.

Otra manifestación del mismo fenómeno, es la llamada *reacción de Loewi*, que se presenta con una cierta frecuencia en esta clase de enfermos. Consiste, como es sabido, en la aparición de una midriasis neta en el ojo del enfermo, al instilar unas gotas de adrenalina. Normalmente, no existe la midriasis: Loewi encontró positiva la reacción en un caso, de tres investigados (2); Eppinger, Falta y Rudinger, en 4 de 20 enfermos probados (3); Eppinger y Hess, en dos casos (4); Cords (5), en 5 de sus basedowianos. Eppinger, Falta y Rudinger, en su comunicación, dicen haber logrado producir el fenómeno en el perro, inyectándole previamente jugo tiroideo, es decir, produciéndole un hipertiroidismo experimental.

Es, pues, lógico suponer que en ciertos enfermos de Basedow, existe una hipertonia funcional del sistema cromafino, consecuencia de la cual son todos los fenómenos expuestos (glucosuria espontánea ó adrenalínica, reacción de Loewi positiva, fenómeno de Ehrmann positivo).

Pero investigando sistemáticamente estos síntomas, nos sorprende, en

(1) *Zeit. f. Klin.-Med.* Bd. 70, 1910.
(2) *Wien. Klin. Woch.*, pág. 20, 1907 y *Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakol*, página, 59, 1908.
(3) *Zeit. f. Klin. Med.*, pág. 66, 1908.
(4) Verhand. des XXVI Kongress. f. inn. Med., 1909.
(5) *Cords:* Die Adrenalinmydriasis. Wiesbaden, 1911.

primer lugar, su falta de constancia. Las estadísticas citadas son prueba de ello. Circunscribiéndonos á la reacción de Ehrmann, vemos que Salzer y Wilenko (1), sólo han logrado una reacción positiva, entre cuatro casos; Ullmann (2), la practicó en 3 casos, con resultado negativo en los 3; nosotros, en 1911, publicamos una estadística (3) de 9 casos, de los cuales sólo en 4 la midriasis fué franca; en otros 4 era débilmente positiva y en 1 negativa. Otras estadísticas, la de Kraus y Friedenthal, por ejemplo (4), dan 11 reacciones positivas de 11 casos investigados; pero, como luego veremos, requieren algún comentario más.

Esta inconstancia en la midriasis del suero de los basedowianos, si bien quita, á primera vista, importancia al valor *práctico*, clínico, del fenómeno para el diagnóstico del mal de Basedow, aumenta su interés científico.

¿Por qué, en efecto, en unos casos se presenta y en otros no? ¿Qué condiciones determinan en unos casos la acción midriásica del suero, mientras que el suero de otros enfermos de la misma dolencia es inactivo?

Si investigamos con cuidado la sintomatología de uno y otro grupo, vemos que la midriasis fuerte del suero se presenta en los casos con exoftalmos, con mucha taquicardia y temblor, con tendencia á la glucosuria y á la fiebre; mientras que la reacción midriásica negativa es la regla en los casos sin exoftalmos, con poca taquicardia y muchas molestias cardíacas subjetivas, con grandes sudores, dolores gástricos (hiperclorhidria) y enflaquecimiento.

Ahora bien, estas dos descripciones corresponden exactamente á los dos tipos señalados por Eppinger y Hess (5) en la enfermedad de Basedow con el nombre de «grupo simpaticotónico» y «grupo vagotónico» del mal de Basedow. Según estos autores, en efecto, en unos basedowianos predominan los síntomas de excitación del sistema vegetativo simpático; estos son los *simpaticotónicos*; en otro grupo predominan las manifestaciones de hipertonia del sistema vegetativo autónomo y principalmente del vago; estos son los *vagotónicos*. Diferentes autores, y entre ellos Noorden (6), han demostrado que es muy difícil encontrar en los enfermos esta disociación entre los síntomas autónomos y simpáticos; nosotros participamos de esta misma opinión y creemos, como Lewandouski, que ambos sistemas vegetativos no son cosas antagónicas en su función, no son los «dos platillos de la balanza» que querían Eppinger y Hess, y

(1) *Wien. Klin. Woch.*, núm. 23, 1910.
(2) *Wien. Klin. Woch.*, núm. 16, 1910.
(3) *Revista Clínica de Madrid*, Octubre 1911.
(4) *Berl. Klin. Woch.*, núm. 38, 1908.
(5) Die Vagotonie. Wien, 1910.
(6) Inaug. Dissert. Kiel, 1911.



que, en general, en los basedowianos se observan á la vez síntomas de hipertonia del vago y del simpático. Pero es también indudable que *en muchos enfermos predominan unos ú otros síntomas en tal número, que se puede clínicamente aceptar la clasificación en vagotónicos y simpaticotónicos.*

El grupo de los vagotónicos es particularmente interesante, porque no teniendo exoftalmos, muchas veces poco temblor, poca taquicardia y un bocio que puede ser discreto, pasan en su mayoría como enfermos de otras afecciones de las más diversas; ya como cardíacos (confusión muy frecuente por las grandes molestias cardíacas subjetivas que sufren), ya como gástricos, ya con las vagas etiquetas de neurosis vasomotora, de histerismo, neurastenia, etc. Los clínicos, hasta hace poco, consideraban á estos casos como muy distanciados patogénicamente de los verdaderos basedowianos, y ponían todo su empeño en encontrar reacciones biológicas que los diferenciasen, ya que su sintomatología tiene puntos indudables de contacto. Por eso nos encontramos con el trabajo de Aschner, citado antes, que nos dice que la glucosuria adrenalínica no se presenta sino en el Basedow verdadero y no en las neurosis cardiovasculares que pueden simularle. Por eso también Kraus y Friedenthal aseguran para hacer resaltar el valor diagnóstico de la reacción de Erhmann en el suero de los basedowianos, que así como fué positiva en los 11 basedowianos típicos probados, fué negativa en varios casos de trastornos cardiovasculares con fondo histérico ó neurasténico, con apariencia clínica de mal de Basedow (sudores, taquicardia, eritema factitium, temblor, excitabilidad psíquica).

Ahora comprendemos que estos autores no tenían razón en la interpretación que daban á sus hechos, aunque esos hechos mismos estuviesen bien observados. *Lo probable es que esos enfermos de Aschner que no daban la glucosuria adrenalínica, y esos neurósicos tan parecidos á los basedowianos de Kraus y Friedenthal, que no tenían en la sangre substancias midriásicas, eran, en realidad, verdaderos hipertiroideos, tanto como los calificados por ellos de basedowianos verdaderos; pero pertenecían al grupo vagotónico y por eso no fueron bien diagnosticados.* Hay, pues, razón para no incluirlos en el mal de Basedow, puesto que la enfermedad descrita por este autor se caracterizaba esencialmente por el exoftalmos que falta en los vagotónicos; pero patogénicamente — y á la postre esto es lo que nos interesa — los vagotónicos, como hemos dicho, son tan hipertiroideos como los simpaticotónicos, grupo que corresponde al mal de Basedow clásico.

La razón de que no haya adrenalinemia en unos casos y en otros sí, es bien lógica, ya que el funcionamiento del sistema cromafino y especial-

mente de las glándulas suprarrenales, está ligado al impulso nervioso del sistema simpático, pero es independiente de la actividad del sistema vegetativo autónomo (váguico).

He aquí los resultados observados en nuestros enfermos :

	Reacción de Ehrmann positiva.	Reacción de Ehrmann negativa.	Total.	Positivas por 100.
Simpaticotónicos...	5	1	6	83'3
Vagotónicos........	2	6	8	25'0

La relación de la aparición en la midriasis con el tipo de la enfermedad no puede, por lo tanto, ponerse en duda.

Conclusiones.—*La reacción midriásica en el suero sanguíneo, como todos los demás fenómenos biológicos que tienen por mecanismo la hipertonia del simpático, no se presenta en todos los basedowianos, sino sólo en aquellos que se pueden incluir en el grupo simpaticotónico.*

No sirve, pues, para admitir ni desechar el diagnóstico de hipertiroidismo.

Es un dato más para incluir el caso en el grupo vagotónico ó en el simpaticotónico.

Es de advertir, como final, que este diagnóstico de grupo es útil, no sólo por las razones clínicas antes expuestas, sino porque da indicaciones para el tratamiento : los enfermos muy vagotónicos resisten más que los simpaticotónicos al tratamiento interno ; en cambio, se suelen curar mucho mejor que éstos por la tiroidectomía.

Sobre la acción midriásica de la adrenalina en el hombre

POR

M. MÁRQUEZ

Existen tres grupos farmacodinámicos en Terapéutica ocular que poseen fundamentalmente las mismas propiedades, aunque repartidas de un modo desigual. Dichos tres grupos son: el de los midriásicos, el de los anestésicos locales y el de los vaso-constrictores, locales también. Las propiedades citadas son, asimismo, las acciones midriásica, anestésica y vaso-constrictora existentes en cada grupo como predominantes, acompañadas, además, de las otras dos de los restantes grupos.

1) La *atropina*, que es el *tipo de las sustancias midriásicas*, tiene esta propiedad como fundamental, y, además, como accesorias posee, aunque en débil grado, las acciones vaso constrictoras (que se convierte por agotamiento en la fase contraria, vaso-dilatadora, durante la intoxicación) y anestésica local. Es bien sabido, con respecto á esta última acción, que la atropina en las querato-conjuntivitis superficiales ejerce cierta acción calmante sobre las terminaciones nerviosas, y lo mismo hacen las preparaciones de belladona en la fisura de ano, etc.

2) La *cocaína*, que es el *tipo de los agentes productores de la anestesia local*, tiene ésta como acción dominante, pero no dejan de ser importantes también las acciones midriásica y vaso-constrictora. Esta acción midriásica de la cocaína se utiliza á menudo para el examen oftalmoscópico, cuando se quiere evitar la acción demasiado enérgica y duradera de la atropina. En cuanto á la acción vaso-constrictora, todavía hace algunos años, antes de ser descubierta la adrenalina, se empleaba la cocaína en las intervenciones sobre las fosas nasales, no sólo como anestésica local, sino como isquemiante para evitar hemorragias y para obtener, por adelgazamiento de la mucosa con fines diagnósticos y operatorios, un mayor campo de acción.

3) La *adrenalina*, en fin, el *tipo y el más poderoso de los vaso-constrictores locales* y generales (sabido es el aumento tan considerable de tensión arterial que produce en inyección intravenosa) tiene también, aunque en pequeño grado, las acciones anestésica local y midriásica. La anestesia local, ó mejor hipoestesia, es más bien un efecto indirecto de la isquemia, pues sabido es que todos los isquemiantes, el frío á la cabeza, son, en mayor ó menor grado, anestésicos locales. La acción midriásica

es la última que se ha estudiado, y se comprende, pues es tan débil, que ha pasado mucho tiempo inadvertida, si bien ya hoy no queda duda alguna de su existencia. Yo voy á referirme exclusivamente á la acción sobre el hombre, apoyándome para formular algunas proposiciones hipotéticas sobre su acción en lo ya conocido, y en algunas experiencias hechas sobre hombres sanos y enfermos.

* * *

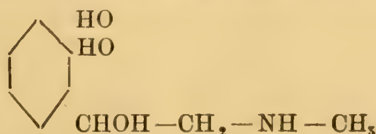
Refiriéndonos ahora á las *relaciones que puedan existir entre la composición química, ó mejor entre la constitución molecular y la acción fisiológica* en cada uno de los citados grupos, diremos lo siguiente:

1.º En el grupo de los *midriásicos*, es sabido que la atropina es el tipo de un grupo de sustancias, naturales unas y obtenidas otras por síntesis química, llamadas *tropeínas*, las cuales resultan á su vez formadas de la unión de una base más sencilla: la tropina ó sus análogos, con un ácido; el trópico ú otros parecidos, como el oxitolúico, etc.

Sabido es también que, si en vez de la *tropina* es de su isómero la *pseudotropina*, de la que al combinarse con ácidos, como, por ejemplo, el benzóico, se obtienen sustancias tales como la pseudotropina ó tropacocaína, resulta entonces que, en vez de dominar, como en la atropina, la acción midriásica, lo hace la anestésica local, mientras que la acción midriásica es débil ó nula y la acción vaso-constrictora se convierte en una ligera acción vaso-dilatadora.

2.º En el grupo de los *anestésicos locales* se encuentran las distintas *cocaínas*, de las cuales la ordinaria, ó sea la metil-benzoil ecgonina resulta de combinar la *ecgonina*, base más sencilla, encontrada en las hojas de la coca del Perú, con el ácido benzóico y el alcohol metílico. Ahora bien, entre esta ecgonina, núcleo de la cocaína, y la tropina, núcleo de la atropina, hay la relación siguiente: la fórmula de la ecgonina (llamada también ácido tropinicarbónico), es igual á la de la tropina, más anhídrido carbónico. Nada de particular tiene, pues, que se conserve la acción midriásica en el núcleo de la cocaína.

3.º En el grupo de los *vaso-constrictores locales*, que tiene por representante principal á la adrenalina, cuya fórmula de constitución admitida es para la adrenalina sintética (Meister Lucius)



ó sea la *orto-dioxi-fenil-etanol-metilamina*, hay que confesar que *hasta*

ahora no se ha encontrado el *motivo químico*, es decir, el núcleo molecular al que sea imputable la acción vaso-constrictora de este grupo de cuerpos.

* * *

Es interesante aún hacer breves consideraciones sobre el mecanismo fisiológico de la midriasis en cada una de las sustancias representantes de cada grupo, así como de las relaciones que existen más especialmente entre la vaso-constricción y la midriasis.

1) La dilatación pupilar debida á la *atropina*, parece debida, de una parte y principalmente, á la parálisis del esfínter del iris ó de las terminaciones nerviosas en él, del motor ocular común, y de otra, á la excitación del músculo radiado ó de las terminaciones en él, del simpático. (Consúltense las obras clásicas de Farmacología para los experimentos que apoyan esta opinión). Acaso influya también algo la ligera acción vaso-constrictora de la atropina.

2) La dilatación pupilar debida á la *cocaína*, es principal y casi exclusivamente debida á una acción excitante sobre el músculo radiado del iris, ó sobre las terminacionss nerviosas simpáticas *musculares*, aparte de la que ejerza también sobre los músculos de los vasos y sobre las terminaciones nerviosas simpáticas *vasculares*, acción que no puede ponerse en duda.

Que la cocaína obra de preferencia excitando el dilatador del iris ó sus terminaciones simpáticas, lo comprueba el hecho de que se produzca, á la vez que la *midriasis pupilar*, lo que se ha llamado *midriasis palpebral*, es decir, un aumento en la altura del orificio palpebral, lo cual se debe á la excitación del músculo de fibras lisas existente en el tendón del elevador del párpado superior (músculo de Müller), ó de sus terminaciones nerviosas simpáticas, lo cual no se observa con la atropina. Es sabido que en la parálisis del simpático cervical hay un ligero grado de ptosis (*ptosis simpática*), y que en los casos de excitación del mismo el párpado superior, retraído, agranda la abertura palpebral. Tal ocurre en los basedowianos y da la razón del síntoma de Graefe.

Este mecanismo de la acción midriásica de la cocaína explica por qué se logra el efecto máximo si se asocia la atropina á la cocaína, y aún más diremos, si se asocian la atropina, la cocaína y la adrenalina.

3) Vengamos ya, en fin, á la acción midriásica de la *adrenalina*. Estoy absolutamente convencido de que se trata, al menos en los casos corrientes de instilaciones á las dosis habituales en la clínica humana, de una *midriasis indirecta* y consecutiva á la acción vaso constrictora.

Veamos, pues, qué relación hay entre la midriasis y la replección ó

isquemia de los vasos del iris. Sabido es que esta membrana, como toda la *úvea* (coroides, región ciliar, iris), es una verdadera esponja vascular y que se trata de tejidos casi cavernosos. Nada de particular, pues, tiene que la cantidad de sangre que hay en sus vasos produzca variaciones grandes en el volumen de estas membranas. Por lo que al iris se refiere, en todos los casos de congestión ó de inflamación aumenta su grosor en todos sentidos, y por ende hacia el orificio pupilar, que tiene tendencia á estrecharse. Por razones opuestas, la isquemia del iris produce un aumento de diámetro de la pupila, ó sea una especie de midriasis *pasiva*. Así, la atropina, cuya acción isquemiante es apenas perceptible, ejercerá accesoriamente este mecanismo, siendo el principal el que antes se dijo; la cocaína, que ya es claramente vaso-constrictora, sumará esta acción á la que antes también se dijo; y por fin, la adrenalina, el más poderoso de los vaso-constrictores, ejercerá su acción midriásica, principal y pudiéramos decir casi únicamente, por este mecanismo.

En efecto, la adrenalina, ni obra como la atropina, paralizando el esfínter, ni excitando el dilatador, ni como la cocaína, excitando principalmente los músculos lisos oculares inervados por el simpático, sino tan sólo excitando los músculos de las paredes vasculares ó los nervios vaso-constrictores del simpático que las inervan.

Hay aquí un contraste evidente entre la acción de la cocaína y la de la adrenalina. La primera obra, como ya se dijo, sobre el simpático *muscular* del ojo, *no vascular*, y la segunda, exclusivamente sobre el simpático *muscular vascular*. Y hay motivos muy fundados para pensar que las fibras simpáticas que van á los músculos oculares (siempre de fibras lisas, por supuesto) no vasculares son completamente distintas de las que inervan los músculos vasculares. Las primeras es de creer que llegan por los nervios ciliares largos procedentes de la rama nasal de la oftálmica; las segundas deben llegar al ojo con los vasos (arterias ciliares posteriores, largas y cortas, etc.) que penetran en el globo por los orificios que hay alrededor del nervio óptico. Unas y otras fibras deben ser de distinta susceptibilidad á la acción de los agentes terapéuticos, lo que explica la acción predominante electiva de éstos en cada caso. Que la acción de la adrenalina en instilaciones y en el hombre debe ser una acción puramente vascular, lo persuaden las siguientes razones:

La acción midriásica es débil é inconstante.

Dicha acción es, además, tardía.

Dicha acción se hace más visible en los casos de parálisis del simpático ocular.

Veamos de examinar estos hechos sucesivamente:

1.ª y 2.ª *Si la acción midriásica de la adrenalina es débil é inconstan-*

te (me refiero exclusivamente ahora al hombre sano, en instilaciones en el fondo de saco conjuntival tres ó cuatro veces durante veinte minutos, de la solución al 1 por 1.000, de la preparación de Parke, Davis, etc., que es la que hemos usado) *y si, además, es tardía* (á la media hora lo más pronto), es, indudablemente, porque se necesita tiempo para que se absorba, pase al humor acuoso y ejerza su acción sobre el iris. Cords, autor de un trabajo fundamental, dice terminantemente que en el hombre sano, en instilación conjuntival, no se observa midriasis alguna (1). Ignoro cómo hizo este autor las 60 observaciones que cita, pues yo no he hecho más que 7 (uno de los sujetos era yo), y de los 7 en 4 hemos observado, á la media hora, una midriasis muy ligera, sí, pero evidente. (Por cierto, y á título de curiosidad lo diré, que en mí, que fuí uno de los sujetos en que hubo una ligera midriasis, y en otro colega, en el que no se obtuvo midriasis, se presentó una cefalalgia ligera en mí y bastante acentuada en el otro caso, que duró como unos veinte minutos, y que no hemos sabido á qué atribuir).

Para nosotros es, pues, sólo cuestión de dosis, de tiempo ó de vía de aplicación, el llegar á producir la midriasis. Por eso, cuando se inyecta subconjuntivalmente, la midriasis es casi segura, y á veces muy acentuada, y en la experimentación animal, en inyecciones intravenosas, se produce siempre y grande. Cremos, con Weekers (2), que, en efecto, *en estos casos experimentales* la adrenalina *obra sobre todos los músculos inervados por el simpático*, pero creemos igualmente que *en la práctica clínica ocular humana obra sólo sobre los músculos de los vasos del ojo*, por necesitarse dosis mucho más elevadas para aproximarnos á las condiciones experimentales y que llegue entonces á obrar sobre todos los músculos lisos oculares. Por esta razón, la midriasis adrenalínica en el hombre sano, y aun en el enfermo, casi siempre, como en seguida veremos, es muy ligera cuando se emplean localmente las instilaciones de las soluciones habituales.

A esta misma conclusión llega el Dr. Santos Fernández (de la Habana) (3).

En lo que se refiere á los ojos enfermos, mientras que Cords y otros

(1) «Beim normalen Menschen beobachtete ich nach mehrfachen Instilationen der 1 por 1.000 Lösung niemals, auch nicht bei völligen Lichtabschluss (Schultz) eine Midriasis». Richard Cords, privatdozent in Bonn. *Die Adrenalinmydriasis und ihre diagnostische Bedeutung. Wiesbaden*, 1911.

(2) *Reaction pupillaire à l'adrenaline lors de myosis dû à une paralysie du sympathique oculaire* par L. Weekers, Prof. à l'Université de Lieje *Archives d'Ophtalmologie.* París, Octubre 1912.

(3) *Mydriase due à l'adrenaline*, par le Dr. Santos Fernández. *Revue générale d'Ophtalmologie*, Octubre 1912.

piensan que cuando hay lesiones corneales el efecto midriásico es mayor, Santos Fernández, en su citado trabajo, cree que el ojo sano, ó más próximo á este estado, es el que absorbe más fácilmente los colirios. Yo, en realidad, no tengo experiencia decisiva, porque solamente he instilado la adrenalina en dos ojos (sin lesiones corneales), en uno de los cuales se trataba de una conjuntivitis subaguda, y en el otro de un epitelioma de la conjuntiva, sin haber obtenido á la media hora absolutamente ningún efecto sobre la pupila.

3.ª Ha llegado el momento de hablar de la acción de la adrenalina en casos de lesiones musculares ó nerviosas del iris, que modifican previamente el diámetro pupilar.

Yo sólo he hecho otras dos observaciones: una, en un tabético de la Clínica Médica de la Facultad, que tenía una ligera desigualdad pupilar (O. I. 4'5 milímetros, O. D. 4 milímetros). Habiendo instilado cuatro veces sucesivas 2 gotas cada vez de la solución al 1 por 1.000, á la media hora la desigualdad persistía idéntica. En otro enfermo de mi consulta particular, al parecer tabético (abolición de reflejo rotuliano, Argyll-Robertson, atrofia papilar, aparte de ser un antiguo miope con estafiloma posterior), que tenía en el O. I. 2 milímetros y en el O. D. 4'5 de diámetro pupilar, se le pusieron varias gotas en el O. I., y *á la hora* había una ligerísima dilatación, pues el diámetro pupilar es ahora de 2'5. En la tabes, pues, la acción midriásica parece débil ó nula, aunque no se puede sacar conclusión definitiva de dos observaciones. En cambio, en los casos claros de síndrome simpático (de los que no he tenido ocasión en estos últimos tiempos de observar ningún caso), Weekers menciona tres (1), en los que de un modo claro se observa siempre que en el lado de la parálisis simpática, ó sea de la miosis, la acción midriásica es evidente, no habiéndose observado en el lado sano. En cambio, cosa curiosa, la instilación de cocaína en el lado de la miosis simpática no ha producido efecto alguno, y, por el contrario, en el ojo sano ha producido una dilatación bastante acentuada.

Precisamente este contraste entre las acciones de la cocaína y de la adrenalina sobre la parálisis simpática confirma mi modo de pensar. Obrando la cocaína principalmente por excitación del músculo radiado del iris y del simpático *no vascular* que le inerva, ¿qué tiene de particular que no produzca acción alguna en los casos en que el simpático se encuentra paralizado? Y, en cambio, si la adrenalina obra por acción sobre los vasos y sobre el simpático *vascular*, *que se halla intacto*, ¿qué de particular tiene también que la adrenalina, isquemiando el iris, llegue

(1) *Loc. cit.*

á producir una midriasis apreciable? Adviértase que cuando hay miosis paralítica el ojo está más sensible para la acción de las sustancias midriásicas, lo cual explica cómo se produce dicha midriasis en el ojo de la parálisis simpática y no en el otro.

Llegamos á la misma conclusión de Santos Fernández (*Loc. cit.*) cuando, enfrente de la opinión de Gautrelet (1), dice que «no es exacto considerar la midriasis como signo *seguro* de las lesiones del simpático»; pero pensamos también que si no es patognomónico, es signo de mucho valor en dicho síndrome oculo-simpático.

Para terminar con una nota práctica, diré que al principio del uso de la adrenalina se creía que esta sustancia favorecía la absorción de los otros colirios, atropina, cocaína, etc., por lo que la acción de éstos era más enérgica. En realidad, se trataba de acciones sinérgicas de midriásicos que, al asociarse y precisamente por producir sus efectos por muy diferentes mecanismos, ejercían una acción mucho más enérgica que la individual de cada uno.

La atropina asociada á la cocaína es mucho más midriásica que cualquiera de las dos aisladamente, y la asociación de ambas á la adrenalina lo es aún mucho más. Por lo tanto, en los casos en que se quiera producir una midriasis intensa y no se halle contraindicada alguna de dichas sustancias, se obtendrá el efecto máximo asociando en la misma fórmula la atropina (ó substancia análoga), la cocaína (ú otro agente de su grupo) y la adrenalina (ó bien la suprarrenina sintética).

(1) *L'adrenaline reactif des lesions du sympathique oculaire. Archives d'Ophtalmologie.* París, 1912.

SESIÓN DEL 25 DE ABRIL DE 1913

Un procedimiento rápido para dosificación de la albúmina en la orina

POR

J. GONZÁLEZ TOMÁS

El procedimiento que voy á describir está fundado en el mismo principio del albuminómetro de Aufrecht.

El albuminómetro de Aufrecht consiste en un tubo de centrífuga graduado, en el cual se mezcla una cantidad de orina con otra de reactivo de Esbach. Después de dos ó tres minutos de centrifugación (según la centrífuga empleada), se ve la altura que alcanza el precipitado, indicando la división de enrase la cantidad de albúmina que contiene la orina.

Nosotros hemos comparado las cifras dadas por este albuminómetro con las obtenidas por pesada del coágulo, y la diferencia en la mayoría de los casos es tan grande, que prácticamente no tiene valor alguno dicho albuminómetro; pero convencidos de su valor teórico, hemos modificado el procedimiento en la forma siguiente:

Utilizamos dos tubos de centrífuga graduados. Uno de ellos tiene marcadas tres divisiones (rayas $\pm$ = S, T y R), el otro tiene veinte divisiones en el extremo inferior y otras dos semejantes á las del tubo testigo. Es preciso, además, disponer de una solución de albúmina que contenga exactamente un gramo por litro (solución testigo).

Para dosificar se llena el tubo testigo hasta la marca S T, con la solución albuminosa y se añade reactivo de Esbach hasta la raya R. En el otro tubo se echa orina (previamente filtrada y convenientemente acidulada) hasta la raya O, y reactivo de Esbach hasta la R. Cogiendo cada tubo con una mano y tapando con el dedo pulgar, se invierten los tubos cinco ó seis veces para que se mezclen bien los líquidos con el reactivo.

Colocados los tubos en una centrífuga de mano, se centrifuga hasta que el precipitado del tubo testigo enrase con la raya E, observando de vez en cuando la altura que va alcanzando dicho precipitado. Una vez conseguido dicho enrase, que se obtiene con suma facilidad, no hay más

que leer la altura del precipitado en el otro tubo. Cada división corresponde á 10 centigramos de albúmina por litro.

Las ventajas de este procedimiento, en cuanto á rapidez y facilidad, son las mismas que con el de Aufrecht, pero en cambio la adopción del tubo y solución testigo da una realidad á la cifra obtenida de albúmina, que no es posible conseguir con el albuminómetro de Aufrecht, como nos lo han demostrado nuestras dosificaciones comparativas con la pesada y albuminómetros. Este procedimiento es útil, también, cuando se dispone de pequeñas cantidades de orina, como ocurre en las recogidas algunas veces por cateterismo ureteral.

Sus inconvenientes son todos los imputables á la precipitación de la albúmina por el reactivo de Esbach, en cuyo detalle no podemos detenernos, pudiendo evitarse en los casos de presencia de albumosas ó peptonas en la orina, empleando la coagulación por el calor en vez de utilizar reactivos.

Las divisiones de los tubos no alcanzan cifra superior á 2 gramos de albúmina por litro, siendo preciso algunas veces diluir la orina al décimo (mezclando una parte de orina con nueve partes de agua). Una investigación previa cualitativa nos permitirá sospechar cuándo es conveniente hacer esta dilución. En los casos en que no se ha hecho y cuando la orina contenga más de 2 gramos de albúmina por litro, la altura del precipitado rebasa la marca de 2 gramos.

Como la distancia entre división y división en estos tubos es bastante visible, es posible por este procedimiento apreciar diferencias hasta de 3 centigramos por litro.



Notas para la histopatología de la poliomielitis epidémica

POR

GONZALO R. LAFORA

La histopatología de la poliomielitis ha sido desconocida, en gran parte, hasta los recientes trabajos de Wickmann, de Strauss, Lermitte y los estudios experimentales de Levaditi y Flexner. El estudio de casos durante el período agudo, muertos en las epidemias de Viena, Breslau, Nueva York, París y Victoria, han servido para colaborar con los estudios experimentales al conocimiento de la etiología y patogenia de esta afección de origen infeccioso y, por tanto, transmisible.

Nosotros hemos tenido ocasión de estudiar el líquido cefalorraquídeo de 11 casos (en unión del Dr. Hough) de la epidemia ocurrida en Washington y el Distrito de Columbia en 1910, y después la médula de un caso muerto en el período agudo de la afección. Como es sabido, la epidemia de Washington comprendió unos 512 casos, produciéndose 16 muertes. Empezó, como suele ser lo general, en el mes de Junio, disminuyendo después paulatinamente en los restantes meses del verano. En cuanto á su extensión, no se observó ningún detalle de importancia, pues se extendió de una manera bastante igual por la ciudad y la campiña de los alrededores.

En el líquido cefalorraquídeo de los enfermos se observa en los primeros días un gran aumento de los leucocitos polinucleares y del contenido de proteína. Esta polinucleosis desaparece á los pocos días, quedando sólo una pleocitosis dependiente del aumento de los linfocitos. La desaparición rápida de los polinucleares parece ser producida por un fenómeno de destrucción de los polinucleares ejercido por las células macrófagas de naturaleza endotelial y linfocítica. Así se observan aglomeraciones de células macrófagas, conteniendo en su protoplasma numerosos núcleos de polinucleares, algunos desintegrados, otros mostrando variaciones en sus condiciones tintoriales, como la pironinofilia (con el método de Pappenheim).

En los días ulteriores de la enfermedad se observan células plasmáticas en abundancia y también células cebadas de Ehrlich, hecho este que nos hizo pensar en la posibilidad de la naturaleza protozoica del germen productor, pues si bien no con constancia (puesto que se exceptúa la tuberculosis meníngea), estas células aparecen en el líquido cefalorraquídeo en enfermedades de esta naturaleza, en tanto que los polinucleares representan el tipo de reacción meníngea á los gérmenes microbianos.

La presencia de polinucleares en gran cantidad durante los primeros días de la enfermedad corresponde probablemente á la reacción meníngea contra el germen. Las meninges constituyen probablemente la puerta de entrada del germen (á través de sus vasos y espacios linfáticos), pues en ellas se observan los fenómenos inflamatorios más acentuados, sobre todo, en los casos muertos en los primeros días.

También se observan células granulo-grasientas cargadas de productos de desintegración Nunca conseguimos encontrar especies bacterianas.

Estos datos referentes al líquido cefalorraquídeo son de interés diagnóstico, pues es sabido que las epidemias de poliomielitis suelen con frecuencia coincidir con epidemias de meningitis cerebro-espinal, dando lugar á confusiones en el diagnóstico clínico, como así en el tratamiento. El análisis y estudio citológico del líquido cefalorraquídeo, como se

desprende de los datos precedentes, es el único medio de llegar al diagnóstico diferencial, puesto que en la meningitis tenemos siempre enorme polinucleosis, ausencia de células plasmáticas, presencia del meningococo y mayor opalescencia del líquido (macroscópicamente). Existen, sin embargo, casos en los que indudablemente se presentan conjuntamente ambas afecciones, y en éstos las dificultades diagnósticas son superiores.

Las lesiones en la médula, estudiadas por nosotros en un único caso muerto en el período agudo, ofrecen también interés.

Macroscópicamente, las meninges de la médula aparecían engrosadas, especialmente la pía madre y sus vasos dilatados. La substancia gris aparecía muy congestionada, con hemorragias capilares abundantes, visibles á simple vista. Las astas anteriores eran las más afectadas, si bien en el engrosamiento lumbar las lesiones se extendían á la parte anterior de las astas posteriores. Las lesiones aparecían más acentuadas en la porción lumbar y engrosamiento cervical. En cambio, en la médula dorsal eran mucho menos marcadas, pero acentuándose en el lado derecho; en el conus terminalis casi no existían, y en el bulbo y puente de Varolio sólo se observaba algo de congestión vascular.

Estudiado microscópicamente, el proceso consiste en una infiltración masiva de los vasos de las astas anteriores con numerosos linfocitos y células plasmáticas, muchas de las cuales salen al tejido circundante, y en la necrosis del tejido, con producción de abundantes células granulo-grasientas y macrófagos, conteniendo restos de células y de tejidos y, además, productos de desintegración múltiples. Del asta anterior, la porción menos lesionada es el núcleo antero-externo, donde pueden observarse aún células nerviosas, si bien en diversos estados de degeneración.

En el tejido necrosado de la substancia gris se pierden las estructuras nerviosas y todo queda invadido por leucocitos polinucleares, por macrófagos y por numerosísimas células gránulo grasientas. Abundantes capilares penetran en esta pulpa de tejido, que se hace imposible de cortar al microtomo de congelación, por desintegrarse totalmente. Entre estas células de derribo se encuentran unos cuerpos protoplasmáticos grandes, amorfos, los cuales no tienen núcleo, pero que contienen numerosas vacuolas en las que están contenidos cuerpos cromáticos de formas variables. Morfológicamente, estas formaciones se parecen á los cuerpos encapsulados de *Leishmann-Donovan* del Kala-azar bovino, pero su estudio detenido nos hace suponer que son masas nucleares de leucocitos polinucleares que, habiendo degenerado, son englobadas en estas formaciones protoplasmáticas. Otros restos nucleares probables son ciertos cuerpos esféricos pequeños (el tercio de un núcleo de linfocito), que se encuentran aquí y allá entre la pulpa del foco necrótico, y que muestran

apetencia por la pironina en vez de por el verde de metilo de la mezcla de Unna-Pappenheim (pironinofilia).

Igualmente relacionados con estas degeneraciones nucleares, son otros cuerpos de cromatina que se encuentran incluidos en vacuolas en el protoplasma de algunas células nerviosas, y que debido también á su eosinofilia accidental, han sido descritos por Proescher (*New-York Medical Journal*, Noviembre 1910) como parásitos semejantes á los cuerpos de Negri. A nuestro entender, son núcleos de leucocitos ó de linfocitos en diversas fases de degeneración y que han penetrado en la célula nerviosa, es decir, semejantes ó iguales á los descritos en la rabia por Achúcarro. También es posible que algunos sean células neuróglicas satélites penetradas en las células nerviosas, puesto que se observa neurofagia acentuada.

En las células plasmáticas, abundantísimas en la pulpa de la región necrótica, están algunas en karioquinesis; otras muestran dos núcleos.

También en la substancia blanca hay lesiones de interés. Vasos infiltrados, si bien en mucha menor cuantía que en la substancia gris, son observados aquí y allá. Células en bastón hay abundantes en la proximidad del foco necrótico, y son indudablemente de naturaleza neuróglica. En los espacios linfáticos de la substancia blanca, vense macrófagos conteniendo restos nucleares y también detritus de células aislados.

Por último, queremos citar, como de interés citológico, una alteración nuclear que hemos hallado en algunas células nerviosas alejadas del foco necrótico, y cuyo protoplasma se encontraba en relativa normalidad. Indudablemente se trata de un proceso progresivo del núcleo como reacción á las toxinas del germen, puesto que de una reacción neuronal á distancia no se puede pensar, toda vez que el protoplasma de la célula y sus grumos de Nissl conservaban, como hemos indicado, un estado casi de normalidad. La alteración consiste en la multiplicación de la substancia acidófila del nucleolo, la cual formaba dos y tres esférulas en vez de una única, como constituye la regla en las células nerviosas del asta anterior y posterior de la médula. Como es sabido, Levi describió en el nucleolo de las células nerviosas humanas una porción central acidófila y unos grumos periféricos basiófilos que, en número de tres ó más, se acoplan como caperuzas (zolle) á la superficie de la esférula acidófila. Ahora bien; en ciertas lesiones del sistema nervioso estas dos partes constituyentes del nucleolo pueden proliferar, y entonces puede hallarse aumentada, ó la cantidad de substancia acidófila y la de la substancia basiófila, ó bien las dos. Esto ha sido observado por Siciliano, por Achúcarro y por Lentz en las células nerviosas en la rabia. En la poliomielitis, generalmente es la substancia acidófila la que se encuentra en estado de proliferación.

Otro detalle histopatológico que pudimos observar, fué la multiplicación y engrosamiento de los gránulos fuchsinófilos de Altmann en las células nerviosas de los núcleos del puente y del bulbo.

De lo descrito se desprende que, á consecuencia de la penetración del germen por los espacios linfáticos de los vasos, se produce una gran infiltración de estos últimos, y, ulteriormente, la necrosis del tejido nervioso en la parte más afectada por el proceso (porción antero-interna del asta anterior de la médula) y fenómenos reactivos del tejido circundante, entre los que se manifiestan procesos progresivos en las células nerviosas.

Que la poliomielitis epidémica es debida á un germen, parece haber sido demostrado recientemente por Noguchi, su descubridor, quien ha encontrado, en unión de Flexner, unos corpúsculos redondos en cadeneta, habiendo inoculado con éxito cultivos puros de los mismos.



Nuevos detalles sobre la estructura del ovario

POR

P. DEL RÍO HORTEGA



El trillado asunto de la histología del ovario, que tantas y tan apasionadas discusiones ha suscitado desde antiguo, se halla incompletamente resuelto, no obstante los trabajos de Waldeyer, Retzius, Schottländer, Wendeler y Nagel, Balfour, Foulis y Minot, Balbiani, Van Beneden, Duval, Renaut y de Sinety.

Cada adelanto en la técnica proporciona nuevos datos sobre los ya conocidos; así, los métodos de la plata, á los que tanto debe la moderna histología, pueden ser pródigos en resultados si se aplican al estudio de la textura del ovario.

Ensayando la coloración del aparato endocelular de Golgi-Holmgren en el ovario de algunos mamíferos (perro, conejo, cobaya), mediante el método de Cajal de la plata reducida previa fijación en nitrato de uranio-formol, hemos conseguido impregnar el citado aparato en todas las células parenquimatosas é intersticiales del órgano, sorprendiendo á la vez ciertos detalles de estructura en el óvulo y la vesícula de Graaf, que expondremos en la presente nota en tanto preparamos con nuevas investigaciones un trabajo más completo sobre este asunto.

Filamento espiroide intranuclear. — En un ovario de perra fijado en formol-uranio durante diez horas y teñido por la plata, utilizando como

reductor la fórmula: hidroquinona, 1 gramo; formol, 15, y agua 100, aparece en algunos óvulos un filamento ó cordón intranuclear de forma espiroide y coloración parda intensa. Muéstrase tan sólo en un momento determinado del desarrollo ovular y precisamente en aquel en que las células epiteliales del folículo primordial han proliferado hasta formar dos á tres capas y aún no ha comenzado á originarse la zona pellúcida. No aparece en los folículos primordiales ni en los óvulos completamente desarrollados.

Caracterízase este cordón intranuclear, por poseer un espesor uniforme de cerca de una micra y una longitud de 25 á 30; por sus extremos apuntados y por sus inflexiones más ó menos acusadas y en planos diferentes. En su forma más sencilla, es de tipo bacilar, incurvado y con ligeras ondulaciones, y en la más desarrollada, de tipo espiroide; distínguese aún en los óvulos más jóvenes, un filamento rudimentario más delgado y más corto.

Ocupa una región del núcleo próxima al centro y no se relaciona con el nucleolo de manera inmediata, aunque á veces parece incurvarse alrededor de él ó tocarle por un extremo.

La naturaleza y función de este organito espiroide, no podemos por hoy sospecharla; el hecho de teñirse mediante un método específico para el aparato de Golgi, parece aproximarlo á este sistema trabecular, del que no obstante, lo aleja su morfología; en cuanto á que se trate de un filamento de cromatina ó de linina, igualmente parece improbable; lo primero, porque no se tiñe con los reactivos de la cromatina, y lo segundo, porque la red de linina en el óvulo, según hemos visto en un ovario de gata, posee caracteres muy distintos. Otra hipótesis en que pudiera pensarse, es la de que constituya cristaloides análogos al bastoncito de Roncoroni de las células nerviosas. No podemos inclinarnos á favor de ninguna de ellas.

La presencia de este filamento en los óvulos jóvenes, no excluye la posibilidad de que exista igualmente en los adultos, siendo probable que no aparezca en éstos, porque el corion que los envuelve oponga dificultades al paso del fijador formol-uránico; por esto mismo tal vez, el intestino de Golgi se impregna en aquellos óvulos incompletamente, tan sólo en sus trabéculas más superficiales, ó no se impregna.

Red de linina.—En una preparación del ovario de gata de veinte días, que debemos al maestro Cajal, se aprecia en el núcleo de algunos óvulos en fase de folículo primordial, un finísimo y bien dibujado filamento, teñido en tono claro, pardo-rojizo; es un hilo flexuoso, repetidamente incurvado y entrecruzado, con algunas anastomosis y que se extiende por todo el núcleo-plasma; unas veces ofrece tendencia á formar asas, pero

otras se dispone en numerosos filamentos, que desde la membrana nuclear se dirigen hacia el nucleolo, ramificándose repetidamente. Es probable que se trate de una red de linina, análoga á la descripta por Cajal en el núcleo de las células piramidales.

Nucleolo. — La mancha germinativa, ó nucleolo ovular, muéstrase en los métodos del uranio constituída por granulaciones argentófilas, dispuestas periféricamente en número de cuatro á seis, ó por bastoncitos alineados en dirección transversal; el nucleolo forma una vesícula clara, en la que destacan vigorosamente dichos gránulos.

Células foliculares. — El origen y constitución de la zona pellúcida ú oolema ha sido muy discutido, y la estriación radiada que la valió el primer nombre, objeto de diversas interpretaciones. Lindgreen y Schäfer la creyeron debida á canalículos porosos de fines nutricios; Renaut, Cruveilhier y Henle, á la penetración en ella de ciertos apéndices cortos de las células del ovisaco; Wagner y Flemming, Paladino y Kolosow, al paso hacia el óvulo de expansiones de las células foliculares, que se anastomosarían con el vitellus del ovocito. Esta última opinión, sostenida recientemente por Retzius en sus magníficos trabajos, ha sido combatida por Regaud y Dubreuil, los cuales afirman que en ningún momento del desarrollo del óvulo en el conejo existen anastomosis verdaderas entre las células foliculares y el óvulo.

Retzius ha comprobado en el óvulo de numerosas especies (chimaera monstrosa, squalus, raja clavata, raja radiata, perca, lacerta viridis, natrix, eruys, columba, gallus, etc.) que, en efecto, las células del folículo emiten expansiones ramificadas, que á través de la zona pellúcida llegan al óvulo y se continúan con su vitellus. Nuestras preparaciones confirman en parte esta idea. Las células de la corona radiata poseen una extremidad central que se adelgaza, se ramifica y se anastomosa con las células inmediatas, de la cual parte una prolongación filiforme que atraviesa la pellúcida y llega al óvulo, en el que termina por abultamientos nodulares, redondeados ó piriformes. Unas veces estas mazas epiteliales llegan solamente hasta la membrana fundamental del huevo, pero otras penetran en su protoplasma. Por la forma recuerdan exactamente á los espermatozoides, pero sus dimensiones son menores.

Existe, pues, una relación íntima entre los elementos del folículo y el óvulo, con el fin de asegurar la nutrición de este último, pero no parece que se verifique mediante anastomosis, sino sencillamente por contactos.

En las células más externas del folículo ya desarrollado y en todas las del folículo joven, se aprecia con el método del uranio la manera cómo se fijan en el tejido conectivo de la theca interna. Tal implantación—que es, sobre todo, evidente en los folículos atrésicos — se verifica mediante

pies cónicos de notable grosor, análogos á los que posee la neuroglia en torno de los vasos, los cuales se tiñen de color mucho más obscuro que el resto del protoplasma celular.

Aparato de Golgi. — La coloración del aparato tubular de Golgi-Holmgren en los elementos del ovario, resulta fácil en las células intersticiales y foliculares y en las formas jóvenes del óvulo; pero en las vesículas primordiales y en el huevo completamente desarrollado, se logra más difícilmente, porque la zona pellúcida, desde que comienza á formarse, dificulta la difusión del fijador formol-uranio, por lo cual se precisa prolongar la fijación durante veinte á veinticuatro horas, ó utilizar, en vez del nitrato, el acetato de uranio que es más difusible. Empleando esta sal metálica en iguales condiciones que el nitrato, se obtiene en el tejido nervioso y epitelios glandulares magníficas impregnaciones del aparato endocelular.

Con ella hemos logrado su mejor demostración en el óvulo. Su disposición varía en las distintas fases del desarrollo ovular.

1.° En los óvulos primarios, cuya característica morfológica es su núcleo voluminoso, esférico y su escaso protoplasma, el retículo de Golgi hállase situado muy próximo al núcleo, enviando hacia éste expansiones que le envuelven en un segmento; consta de recias trabéculas irregulares, que forman una red ó pelotón más ó menos apretado y siempre yuxtanuclear; en ocasiones aparecen como una masa grumosa, maciza y de forma desigual.

2.° El folículo primordial ostenta un aparato que en las fases primeras constituye varios grumos perinucleares, unidos por escasas expansiones, y en estadios más avanzados de su desarrollo una red de mallas flojas, formada por cordones bastante gruesos, dispuestos de manera irregular, muchas veces radiada, los cuales se extienden por toda la masa citoplásmica, pero sin aproximarse al núcleo.

3.° En el óvulo ya desarrollado, tal sistema endocelular se caracteriza por sus recios cordones y tractus, que limitan anchas mallas, y por las confluencias ó lagos que aquéllos presentan en diferentes puntos. Tienen tales lagunas aspecto muy irregular, y de ellas parten múltiples cordones que enlazan unas con otras, ó terminan libremente en maza ó en punta; oriéntanse paralelamente á la superficie ovular por debajo de la membrana y tocan casi con ella las más periféricas, mientras las profundas permanecen bastante alejadas del núcleo.

Obsérvase, pues, que durante el desarrollo del huevo, su aparato endocelular experimenta una metamorfosis completa, puesto que en los óvulos primarios consta de mallas apretadas; se sitúa en un lado de la célula y toca ó abraza al núcleo; en los folículos primordiales forma un

sistema reticular más flojo, extendido por todo el citoplasma, y en el óvulo, llegado al final de su desarrollo, posee también un retículo de espacios muy abiertos, pero con gruesos cordones y anchas confluencias, alejado del núcleo y próximo á la superficie.

El sistema trabecular de Golgi ha sido estudiado por algunos autores en las células del folículo de Graaf y cuerpos amarillos, y en el epitelio ovárico (Decio, Riquier, etc.). En las células foliculares descúbrese un aparato de situación yuxtanuclear, formado por cordoncitos varicosos, unidos por puentes más delgados; generalmente ocupa el cabo central de la célula, pero tal disposición no es constante; sus prolongaciones siguen á veces el contorno del núcleo, pero otras son divergentes, lo que se observa de preferencia en las capas medias del ovisaco, en las cuales su forma tiende á hacerse estrellada.

En los cuerpos lúteos y albicans, el sistema trabecular está bastante desarrollado, próximo al núcleo y constituído por cordones dirigidos en la dirección de las células, en las más superficiales, y radiadamente en las profundas, muchas de las cuales ofrecen apéndices protoplásmicos, por los que corren aquéllos.

Las granulaciones de luteína se tiñen mediante el uranio y la plata, y ocultan el retículo endoplásmico, que sólo es visible como un pelotón grumoso, casi macizo, en las células menos cargadas de aquel principio.

En las células conjuntivas de las thecas y en las intersticiales del órgano, aparece igualmente el aparato de Golgi siempre muy cercano al núcleo y orientado en la dirección de la célula.

Por último, en el epitelio de revestimiento del ovario distínguese tal sistema con caracteres diferentes á los que ofrece en la generalidad de los epitelios. En éstos ocupa un lugar relativamente alejado del núcleo, y sus trabéculos, poco complicados, se disponen perpendicularmente al eje de la célula. En el epitelio prismático del ovario, por el contrario, es muy próximo al núcleo; se sitúa como un casquete por encima de él y le envía prolongaciones que le abrazan y forman á veces á modo de cestillo. Sus filamentos son finísimos y sus anastomosis bastante abundantes.

Tejido conectivo. — Con el método de Cajal del nitrato de uranio, prolongando la fijación por veinte ó veinticuatro horas; con el de Achúcarro, del tanino y la plata amoniacal, y con el de Bielschowsky se logran bellísimas coloraciones del conectivo ovárico, que por sus caracteres especiales y poco conocidos, merece una completa descripción. Pero ella requiere nuevas observaciones.

Nuevas investigaciones sobre las estructuras artificiales

POR

A. LECHA-MARZO

Dedicamos esta nota al estudio de algunos crecimientos osmóticos que hemos logrado encontrar poniendo en frente, unos de otros, y en la platina del microscopio, varios cuerpos y reactivos. No es la bella cuestión de los crecimientos osmóticos y la biología sintética el asunto de esta nota; es un programa más humilde, el interés que los crecimientos osmóticos, las estructuras artificiales pueden ofrecer á la histología actual, á los métodos histológicos corrientes. No creemos que la cuestión haya sido llevada á la discusión científica con los hechos que nosotros aportamos aquí. Los hechos de germinación de los colores de anilina que describiremos en seguida nos incitan á ello. La histología moderna, preocupada en encontrar todos los días un reactivo y un método más, se preocupó poco de los procesos que estos reactivos pueden originar entre sí, y tal vez en algunas ocasiones se lanzó en busca de lo desconocido, llevando en sus mismos medios la causa de sus errores.

Nadie pone en duda los progresos realizados en el estudio de la anatomía microscópica de nuestros tejidos. No se puede negar todo el partido que la fisiología y la patología han obtenido de este estudio No desconocemos tampoco que los mismos creadores, Cajal, Golgi, Donaggio, Ehrlich y otros muchos, señalaron frecuentemente los precipitados, las falsas membranas, etc., fáciles de ser confundidas con las estructuras naturales. Pero lo que no se aseguró jamás, y que se nos conceda á nosotros la responsabilidad de estas afirmaciones, es que por la osmosis, nuestros reactivos, los colores de anilina, son capaces de originar todo un mundo de falsas estructuras, como muchas de las reveladas en nuestros tejidos. Que no sólo se pueden observar con el artificio, cristalizaciones más ó menos curiosas, arborizaciones, precipitados más ó menos dispuestos en membrana, sino que los colores de anilina pueden dar el aspecto exacto de las células, de las fibrillas, de la materia intercelular (1). Que hemos dado comienzo al estudio de la cuestión, y gracias á sencillos experimentos apareció ante nosotros un mundo de estructuras desconocidas por los

(1) Es de suponer que las diferencias con las células de nuestros tejidos salta á primera vista, pues es muy distinta la composición.

histólogos. Estudios posteriores, la intervención de otros buscadores, ampliarán estos horizontes, y, no lo dudo, no pasando mucho tiempo, al lado de nuestros Tratados de Histología, escribiremos la pseudo-histología de los reactivos, que se estudiará la primera como medio seguro de evitar el error.

No creemos ser víctimas de una ilusión. Los histólogos no pueden negar que trabajan sólo con cadáveres, que fijan con sus reactivos y sus métodos de congelación. Estos trabajos nuestros, usando sus mismos medios, reactivos y microscopio, parecen demostrarnos, además, como ya era sabido, que transforman estos cadáveres.

No nos alienta el espíritu de muchos jóvenes investigadores, que ha sido analizado por Cajal, más preocupados, en un afán de adquirir pronta notoriedad, de deshacer que de construir. No puedo negar, ni debo negar, ninguna de las adquisiciones de la histología actual. El hecho que queremos aportar es el siguiente: al proponer los métodos hitológicos, tan variados y tan numerosos, se olvidó la posibilidad de los crecimientos osmóticos. Al hacer las observaciones microscópicas se olvidó que la osmosis, origen de las formas, y que la cristalización en medios coloides puede dar lugar á toda clase de estructuras artificiales. La noción nueva será de utilidad para las pesquisas histológicas futuras.

Nuestra primera investigación sobre crecimientos artificiales, comunicada á la Sociedad de Medicina de Bahía, data de 1909. Y es hoy, en 1913, cuando nuestros ensayos han sido confirmados, cuando nos permitimos señalar su importancia.

Como es sabido, los plasmogenistas, los Leduc, los Herrera, hermanos Mary y otros, dedicáronse durante estos últimos años á reproducir las estructuras celulares, y aisladamente los llamados fenómenos vitales, con ayuda de las sales metálicas, los ferrocianuros y la sílice. Preocupados con el gran problema de la vida y con la nueva ciencia, nos dejaron á nosotros una labor de menos alcances filosóficos, pero no menos interesante, las falsas estructuras en histología. Y para defender mis resultados transcribiré las opiniones favorables de Herrera, que en Marzo de 1910 me escribía que los ensayos hechos aquí demuestran «que las reacciones microquímicas y muchas de las estructuras de los tejidos teñidos pueden ser artificiales ó accidentales»; y la de Sthephane Leduc, este sabio más amado aún por haber sido más perseguido, que escribe en su reciente libro «La biologie sinthetique» (editor Poinat), que los crecimientos osmóticos obtenidos con los reactivos de los histólogos han sido descubiertos en España.

Para excusarme en esta falta de modestia puede recordar la conocida frase de Cajal, defecto por defecto, al apocamiento es preferible la arro-

gancia. Además, presentando las cosas de uno como personales y las ajenas como cosas de otros, el blanco de la crítica y del elogio aparece más delimitado.

Rose (1837), Böttger (1865), Traube (1866), Tamman, Reinke, Ferd, Cohn, de Vriès y otros precedieron á Herrera y Leduc en el estudio de los crecimientos osmóticos. Todos estos autores, con sales metálicas y con los silicatos y los ferrocianuros observaron la producción de los más variados crecimientos osmóticos, de forma análoga á la de las plantas. Leduc ha reproducido y estudiado en los líquidos todas las figuras de karioquinesis, valiéndose de centros dinámicos. Análogos estudios realizaron Gallardo y su discípulo, el profesor Damianovich, valiéndose de soluciones colorantes y coloidales. Y téngase presente, aceptando las ideas de estos autores, que lo que sabemos del dinamismo, del cinetismo, de las metamorfosis energéticas, de las soluciones en general, que lo que conocemos de la morfología de los líquidos es muy poco comparado con lo que resta por descubrir.

Herrera ha sostenido que son las impurezas silíceas de los ferrocianuros las que originan las plantas artificiales. En el mismo error incurrieron Harting, Butles Burke, Dubois, Kuckuc, que en distintas épocas, con el fin de obtener formas artificiales, acudieron á la albúmina de huevo (Harting), á la goma, á la gelatina. En la albúmina de huevo, en la goma, en los caldos gelatinosos, es la sílice—continúa Herrera—la que origina las estructuras pseudo vivientes. En la misma equivocación incurrió Traube al preparar sus celdillas artificiales con tanino y gelatina, pues el tanino contiene silicatos como impureza.

Llegamos ahora á nuestros trabajos. En 1909, en una comunicación á la Academia de Medicina de Bahía y en otras publicaciones, describimos la germinación de los alcaloides en el ácido fosfo molíbdico y en el ácido fosfo-túngstico. En 1909 publicamos la germinación de los colores de anilina en el ácido fosfo-túngstico. En 1912, estudiando estas cuestiones con nuestro amigo el Dr. H. Welsch en el Instituto Médico-Legal de Lieja, encontramos la germinación de los coágulos de sangre en el ácido pícrico y la germinación de los glóbulos rojos también en las soluciones acuosas de este ácido. Uno de estos trabajos lo presentamos en la Sociedad de Medicina Legal de Francia, otros en la Academia de Medicina de Gante, acompañados de preparados y microfotografías.

En nuestros artículos se encontrarán descriptas las estructuras tan curiosas que la cinconina, quinina, estricnina, morfina, codeína y aconitina dan origen tratadas en el porta-objetos por el ácido fosfo-molíbdico. La cinconina, estricnina, brucina, solanina, aconitina y curare con el ácido fosfo-túngstico. En nuestra comunicación á la Academia de Medici-

na de Gante hemos afirmado que el reactivo de Sonneschem y el ácido fosfo-túngstico (á partes iguales en volumen) germinan los cristales de morfina y que algunas preparaciones dan la ilusión de la presencia de células nerviosas, coloreadas por el método de impregnación argéntica de Cajal. En una conferencia sobre «La físico química y los fenómenos vitales», que pronunciamos en el «Círculo Hispano Americano de Lieja», 29 de Marzo de 1912, presentamos una microfotografía de la germinación de la estricnina en el ácido fosfo túngstico. Si no lo hubiésemos advertido de antemano, podríamos asegurar que estábamos ante una célula verdadera, con su membrana de cubierta, con su protoplasma, con su falso núcleo, con su nucleolo incoloro (*porque la materia nucleolar no toma los colores que apetece la nuclear*), con sus horquillas de cromatina dispuestas en la fase en descanso, casi el esquema de Rabl.

Mis resultados no tardaron en ser confirmados. El profesor Obregón sostenía que la belleza del fenómeno no era para descripta, que era necesario observarlo al microscopio. La Academia de Medicina de Gante nombró una Comisión encargada de dar informe, y compuesta por los doctores Vercautaren, Meurice y De Busscher: «Hemos tenido la curiosidad de comprobar las afirmaciones del Dr. Lecha-Marzo; para esto hemos recurrido á la colaboración preciosa del Dr. Schoep, químico, profesor ayudante del Instituto de Terapéutica de nuestra Universidad. Los fenómenos dados á conocer por nuestro colega español son perfectamente exactos; los hemos visto reproducirse ante nuestros ojos». El profesor De Dominicis, en una Revista italiana (*Il Risveglio Medico*, 1909) hace la misma afirmación. Y Denigés, catedrático de la Universidad de Burdeos, cree que las germinaciones alcaloídicas, como los *vegetales de Traube*, se explican bien por los fenómenos de osmosis y la formación progresiva de una membrana de precipitado semipermeable.

Herrera ha confirmado también nuestros resultados, y en su «Résumè des recherches de Plasmogenie», publicado en los *Archives de Plasmologie générale*, 1912, emite la opinión de que son producidas por las impurezas silíceas de los reactivos, y las metálicas de los alcaloides y de las anilinas. González Carrascal, que ha dedicado á la cuestión un estudio publicado en los *Archives Internationales de Médecine légale*, 1910, después de numerosos experimentos, defiende nuestra tesis.

Debemos referir ahora los resultados que hemos obtenido con los colores de anilina. Empleamos el ácido fosfo túngstico en solución acuosa al 1 ó 2 por 100 y los ensayos los haciamos siempre en el porta-objetos, depositábamos la materia colorante, aplicábamos el cubre-objetos, y, entre las dos láminas, hacíamos pasar una gota del reactivo.

El violeta de genciana ó el violeta de metilo (Merck) permite asistir á

una curiosa germinación: todas las partículas comienzan muy rápidamente á originar larguísimas prolongaciones; algunas presentan dilataciones en saco ó en globos y prolongaciones laterales, lisas unas ó con segmentos como engastados otras. La coloración es muy intensa.

El violeta de metilo 5 B y el K B germinan también en el ácido fosfotúngstico. El verde de metilo (Merck) origina una de las más bellas germinaciones: las prolongaciones muy largas recuerdan los vegetales espinosos y pueden bifurcarse repetidas veces. El extremo de la raíz crece con una nubécula, y algunas presentan ensanchamientos ovoidales ó esféricos con delgados puentes de unión, como en un rosario.

El azul de metileno produce crecimientos que semejan las células de la neuroglia.

El azul policrómico de Unna origina también estas falsas células, y lo mismo el azur-blau II y el azur I Giemsa (de la casa Merck). También el pardo Bismarck.

No sabemos dar idea de la belleza que encierran estas germinaciones de los colores de anilina. Lo mejor es examinar las microfotografías y repetir estos sencillos experimentos y se verá que nuestro apasionamiento no es infundado.

Nuestros ensayos fueron confirmados también por el profesor Rodríguez Méndez y por su alumno el Dr. Cabanes, que publicaron en el mismo año 1909 sus resultados; por el profesor Obregón G., que escribía: «la impresión que nos causó cuando por vez primera contemplamos extasiados la reacción del ácido fosfo-molíbdico sobre cristales de cinconina, es insignificante si la comparamos con la que experimentamos al observar las pseudogerminaciones de belleza sin ejemplo que tienen efecto cuando se pone en contacto el ácido fosfo-túngstico con diversos colores de anilina».

Obregón ensayó otros colores de anilina y pudo observar la germinación de la tionina, del verde de yodo y de la safranina en el ácido fosfotúngstico.

Ultimamente, en el Laboratorio del Hospital Militar de Madrid y en el de Medicina legal de nuestra Facultad, hemos encontrado toda una serie de germinaciones y de estructuras nuevas con la crisoidina I B, Grübler, azul de toluidina, verde brillante, violeta de dalia (Cogit), violeta 5 B, Grübler, Methylgrün J B Grübler, todos tratados con el ácido fosfotúngstico.

Acabo de observar también que las sales de oro pueden hacer germinar los alcaloides.

Con el Sr. Muñoz Urra, encuentro que el tanino, agregado al ácido fosfotúngstico en la proporción de 1 por 100, provoca, por ejemplo, en la ger-

6

minación del violeta de metilo, una mayor complicación estructural: dentro de las prolongaciones aparecen redes cristalinas y cuerpos redondos, de color rojo rubí, que recuerdan ciertas inclusiones celulares.

Aumentando la cantidad de tanino las germinaciones tienen prolongaciones cortas y pueden recordar los espirilos que estudia la bacteriología.

Además, hemos observado que el ácido fosfo-molíbdico al 2 por 100 da origen á nuevas estructuras con el violeta de metilo 5 B y con el violeta de genciana.

En el campo de la biología sintética, nuestros hallazgos interesaron bastante á Leduc, Delfino, González Carrascal, Juarros y otros. Víctor Delfino habla «de las consecuencias importantes que se pueden deducir de la biogénesis de éstos, como de los demás crecimientos osmóticos, con respecto de la teoría físico-química de la vida y el origen de los seres por generación espontánea, teorías que han dado sólida coherencia y una preciosa unidad á la grandiosa doctrina de la evolución».

González Carrascal, basado en mis hallazgos, ha sostenido que la propiedad de engendrar las celdillas con membranas osmóticas, y los crecimientos osmóticos, no es propiedad única á un coloide determinado, como pretende Herrera. Lo mismo que la sílice, el ferrocianuro de potasio, el ácido fosfo-túngstico, el ácido fosfo-molíbdico el ácido pícrico, por un lado, y por otros, las sales metálicas, los alcaloides, las anilinas, la sangre, el glóbulo rojo, etc., pueden provocarlas.

Pero estas cuestiones de tanto interés para la biología sintética no son objeto de nuestra comunicación. Por el contrario, señalaremos la importancia que para la histología tienen los crecimientos osmóticos de las anilinas.

Advertiremos, además, que estos crecimientos osmóticos pueden obtenerse también con las células de nuestros tejidos, por la influencia de los reactivos histológicos. Si se tratan los hematíes humanos en el portaobjetos por una gota de solución acuosa de ácido pícrico al 1 por 100, cada glóbulo da origen á una, dos, tres, cuatro prolongaciones. Las figuras obtenidas se diferencian fácilmente de lo que se observa en los glóbulos recogidos en el cadáver y que presentan las deformaciones cadavéricas. La estructura de las prolongaciones es análoga á la del cuerpo protoplásmico, y si un histólogo hubiera observado una de estas células transformadas en el interior de un tejido con otra cualquiera célula redonda, como no asistió á su variación, la hubiera considerado como estrellada.

Tengamos presente que los histólogos emplean el ácido pícrico en fórmulas fijadoras y asociado á materias colorantes, constituyendo colores

de fondo y que forma parte de la picro-fuchina de Van Giesson y de los picro-carmines.

Y si fuere verdad que las germinaciones de los colores de anilina son debidas á la sílice que contiene el ácido fosfo túngstico, deberíamos recordar que la sílice puede encontrarse en gran número de reactivos histológicos, que las colesterinas, las albúminas, las grasas, que los hematíes, que los leucocitos, que los infusorios, que las células vegetales, que la celoidina, que la parafina (materias de inclusión más empleadas por los histólogos) contienen sílice; que, con el tanino, otro de los reactivos empleados en Histología, Traube obtuvo las celdillas y estructuras artificiales. Debemos advertir también que el alumbre, otra de las substancias empleadas por los histólogos (forma parte de las hematoxilinas Böhmer y de Ehrlich, de la hemateína de Grübler), puede ser origen de otras estructuras; que forma parte del carmín de Grenacher y de la cochinilla de Czokor y que en los métodos histológicos que tiene su aplicación, se recomiendan como colorantes de fondo, colores que llevan ácido pícrico.

No sabemos si debemos recordar también que los métodos de coloración de la neuroglia, como el de Weigert, el alumbre, las sales metálicas (sulfato de cobre) y los colores de anilina pueden ser origen de falsas estructuras. A las mismas consideraciones críticas se presta un método propuesto en estos días por el profesor Simarro.

En los métodos de tinción de los flagelos de las bacterias interviene el tanino con su sílice y sales metálicas, posible origen de estructuras más complicadas que los flagelos mismos.

Y hay algo más todavía; con los colores básicos de anilina, que los histólogos emplean para teñir los núcleos, y en general, los contornos celulares, nosotros hemos imitado estas formas, pero no la materia intercelular, las estructuras en fibrillas. Los histólogos, para teñir estas materias intercelulares, emplean los colores ácidos. Nosotros, con el naranja R F de la casa Merck, hemos observado las estructuras de la materia intercelular. Los hacecillos de fibrillas se imitan bien. La cuestión se complica y resulta cada vez más interesante. Esperamos la tesis del Sr. Mateo Carreras, discípulo de Rodríguez Méndez, que estudia ahora la cuestión en el laboratorio del Dr. Maestre.

Hay más aún; las falsas estructuras pueden presentar en sus distintas partes coloraciones y estructuras distintas (véase la germinación de la estricnina); toman, como las células, los colores de anilina (Herrera), lo que hace difícil ó imposible la diferenciación de lo falso y de lo verdadero.

Leduc habla de nuestros hallazgos con las anilinas, como ejemplos de

falsas estructuras que la cristalización puede originar en los medios coloides. Y agreguemos, y ha sido indicado ya por otros autores, que las cristalizaciones lentas en los medios coloides son los procedimientos que pueden dar mejores imitaciones de la celdilla.

La sílice, las sales de sodio y potasio pueden originar, sin anilinas, todas estas estructuras. Más aún, todo punto de dilución ó concentración, de calentamiento ó enfriamiento, de disolución de una substancia, puede llevar á los mismos resultados.

¿Es qué la Histología concedió á todos estos hechos el interés que se merecen?

Herrera pone en duda la pluralidad de los componentes químicos del núcleo. Las estructuras y coloraciones falsas que nosotros hemos demostrado con los colores de anilina pueden constituir un argumento en su favor. En estos días Faure-Fremiet estudia la cromatina del núcleo normal de las células de las glándulas salivares de las Hidrocorisas que en vivo se presenta al estado coloide, solución que es precipitada en gránulos ó en retículos por la acción de los reactivos fijadores.

Cuando nosotros hablamos de las falsas estructuras obtenidas con los colores de anilina, algunos las ponen en duda. Cuando mostramos las preparaciones ó las microfotografías, se dice que carecen de importancia. Cuando demostramos la atención que les merecen á algunos sabios extranjeros y que Carracido ha escrito: «No incurro en el desvarío de sostener que la obra de la presión osmótica, produciendo las células de Traube y de Leduc, engendre verdaderos organismos que pueden asemejarse á los engendrados en el curso de un proceso vital, pero aquellos experimentos creo que son factores que, integrados con otros, nos han de dar en lo futuro la Biología sintética, como la formación artificial de las aminas, de los ácidos orgánicos y de los éteres fué preparando la de las materias albuminoideas». Entonces alguno nos pregunta qué sucedería de la labor de Cajal. Como si la labor de Cajal no fuese multiforme y ella pudiese decaer por unas cuantas experiencias, por muy grande que sea el interés que nosotros queramos concederlas.

Recordemos, además, que Cajal no hizo sus principales descubrimientos con los colores de anilina. Que la fotografía reproduce exactamente por la gelatina, por las sales de plata y por los reveladores, las formas reales de los objetos. De análogos medios se valió Cajal para los estudios histológicos. Tal vez algún día se demuestre que la histología más libre del artificio sea la histología española.

Finalmente, una conclusión resulta de nuestros estudios: Los colores de anilina por la acción de reactivos de composición relativamente sencilla, pueden dar origen á todo un mundo de estructuras artificiales.

Estos son los hechos, y en el terreno de los razonamientos se puede preguntar qué no producirían estos mismos colores de anilina al unirse á las células de nuestros tejidos.

Lamarck escribió en su *Filosofía zoológica*: «Los pensamientos, los razonamientos y las explicaciones que se encontrarán en la exposición de esta obra, no deben ser considerados más que como simples opiniones, que yo propongo con la intención de advertir aquello que me parece ser, y que podría efectivamente tener lugar».

* * *

Creo un deber hacer pública manifestación de mi agradecimiento á mi venerado maestro el profesor Maestre, de Madrid, cuyos consejos me fueron siempre tan útiles y en cuyo laboratorio hemos llevado á cabo estos trabajos.

DISCUSIÓN

El Sr. **Achúcarro**: Los experimentos de crecimientos osmóticos tienen indudablemente interés para quien se ocupa de morfología orgánica. No es posible desconocer que, en la determinación y mantenimiento de las formas orgánicas, intervienen fenómenos de osmosis, y que estos fenómenos tienen importancia para el crecimiento y división de las células.

En los últimos años Koltzoff ha estudiado especialmente este problema, señalando por medios experimentales las variaciones de forma de las espermias del Inachus scorpio, debidas á variaciones en la presión osmótica. Del mismo modo ha estudiado el problema de la fijación de la forma celular en relación con el tono osmótico de las soluciones fijadoras, encontrando que las variaciones de tono osmótico, dentro de ciertos límites, no tienen influencia en la bondad del efecto fijador. La rapidez de penetración del fijador tiene para Koltzoff, en cambio, la mayor importancia.

Los experimentos del Sr. Lecha-Marzo muestran gran variedad de formas osmóticas, y son, por tanto, una extensión de las figuras obtenidas especialmente por Leduc.

El hecho de que el Sr. Lecha-Marzo se haya servido para la producción de estas figuras, de los colores de anilina usados frecuentemente en los laboratorios histológicos, y la semejanza morfológica que ha creído ver entre sus crecimientos de anilinas y las estructuras histológicas descritas en los libros (cilindro-ejes, células de neuroglia, flagelos), le han llevado á mantener una tesis que nosotros consideramos absolutamente errónea.

Piensa el Sr. Lecha-Marzo que las figuras obtenidas por él han de servir para llamar la atención de los histólogos, acerca de la poca seguridad de sus métodos, y acerca de la facilidad de producirse en los tejidos figuras osmóticas que puedan dar lugar á considerarse como estructuras preexistentes. Piensa también, que gran número de las estructuras que figuran en las descripciones histológicas, probablemente son crecimientos osmóticos como los que él nos presenta.

De tal manera esta convicción del Sr. Lecha Marzo es profunda, que sugiere la necesidad de que los Tratados de Histología recojan, en un capítulo especial, los hechos descritos por los que estudian la morfología osmótica, y muy naturalmente, sobre todo los suyos, que por haber sido producidos por medio de las anilinas

usadas en laboratorios, serían más á propósito para confundir á los histólogos.

Nosotros creemos que este capítulo había de ser completamente inútil para los fines de que nos habla el Sr. Lecha-Marzo: 1.º Porque en la producción de artefactos histológicos el gran escollo para los histólogos se encuentra muy especialmente en la fijación. 2.º Porque las imágenes reveladas por los experimentos de Lecha-Marzo no se parecen nada ni á células, ni á cilindro-ejes, ni á células de neuroglia, ni á nada de lo que los histólogos consideran como estructuras preexistentes.

La sospecha de que las imágenes obtenidas por los histólogos no sean estructuras preexistentes, no se borra ni un momento de la Histología. Se discute si las neurofibrillas existen ó no, si son ó no estructuras funcionales los grumos de Nissl, y, sobre todo, aquellas estructuras reticuladas que llenan los tejidos, como, por ejemplo, la red pericelular y de relleno de Bethe, que tiene semejanza morfológica con formas de coagulación de substancias albuminoides. Los trabajos experimentales de Mann y de Fischer para estudiar los artefactos producidos por la fijación; los estudios de Albrecht, de las células sin fijación, por el método que él llamaba de la saponificación, son representantes de esta corriente en la Histología.

De tal modo antes de los experimentos de Lecha-Marzo ha existido esta actitud crítica en la Histología, que Nissl ha introducido en la Histología patológica el concepto de «Imagen equivalente», que sintetiza la manera utilitaria de servirse de las imágenes histológicas, sin tener en cuenta cuáles de ellas sean debidas á las modificaciones introducidas por los reactivos si éstos son usados con métodos regulares y constantes.

Este criterio no puede emplearse en la Histología normal, en la que importa decidir si las imágenes corresponden ó no á estructuras preexistentes, puesto que se trata de atribuirles significación funcional Pero aquí la crítica de los histólogos no cesa; por el empleo de métodos totalmente diferentes en sus procedimientos, por el estudio de las variaciones de las estructuras con alteraciones de los estímulos fisiológicos, etc., etc., obtienen la seguridad de sus imágenes en lo posible.

Pero siempre se trata de preparaciones fijadas y, por lo tanto, en una situación que difiere esencialmente de las condiciones de experimentación de Lecha-Marzo.

Por otra parte, las imágenes presentadas por Lecha-Marzo en nada se parecen á las imágenes histológicas obtenidas con los mismos colores. Para que las formas osmóticas pudiesen explicar la producción de imágenes histológicas, bien sean estructuras preexistentes, bien sean artefactos, necesitan tener una cierta semejanza con estas últimas. Esto es evidente; la amiba artificial hecha con una gota de aceite por Bütschli, se parecía tanto en sus movimientos á la producción de prendópodos en la amiba natural, que podía utilizarse muy bien tal experimento, y especialmente por un naturalista conocedor de las formas orgánicas, como Bütschli, para explicar los movimientos del protoplasma. Cuando, en cambio, Leduc nos presenta una imagen de precipitación periódica, y le llama forma articulada por la semejanza lejana que pueda tener con un animal articulado, este precipitado tendrá el valor que pueden tener las nubes al sugerir en la fantasía la forma de un perro ó de una cabra, pero ningún otro valor científico.

En lo histológico sucede lo mismo; las estructuras esponjosas de las espumas dibujadas por Bütschli, pueden hacer pensar si los espongioplasmas de los histólogos deben su existencia al mecanismo de la producción de espumas, mientras que las imágenes presentadas por Lecha-Marzo jamás harán dudar á ningún histólogo de la existencia de las células de neuroglia, ni tan siquiera tendrán un valor desde el punto de vista de la plasmogenia para explicar estas formas.

Por estas razones, y sin tener competencia para considerar si los experimentos de Lecha-Marzo servirán ó no para otra cosa, pensamos nosotros que no tienen ninguna utilidad para los estudios histológicos.

El Sr. **Madinaveitia** (A.): El fenómeno de los crecimientos osmóticos no tiene nada de misterioso, es un proceso físico-químico perfectamente definido, y por lo tanto, se puede predecir con seguridad en qué casos no se producirá y cuáles puede producirle.

Conocido es de todos el mecanismo de estos crecimientos. Si nosotros colocamos dentro de una solución (generalmente acuosa) una partícula de un cuerpo soluble en el agua y cuya solución dé con el líquido en cuyo seno hemos colocado la partícula un precipitado de carácter gelatinoso, observaremos los fenómenos siguientes: el cuerpo sólido empezará á disolverse en el agua, pero esta solución se cubrirá en seguida de una cutícula semipermeable y tendremos las condiciones para que las tensiones osmóticas entren en juego; si el tono de la solución de dentro es mayor que el de la exterior, entrará agua dentro de la célula semipermeable y ésta se dilatará hasta que, rasgando por algún sitio su cutícula, salga por esta rasgadura parte de la solución que contiene en su interior, recubriéndose en seguida por la cutícula semipermeable y continuando de este modo su crecimiento hasta tanto que la diferencia de tono entre la solución interior y la externa no sea ya lo suficientemente grande para rasgar la cutícula envolvente.

Del mecanismo del fenómeno vemos que, para que se produzca un crecimiento osmótico, necesitamos dos soluciones que produzcan entre sí un precipitado semipermeable (en lugar de una de las soluciones se emplea, en la mayor parte de los casos, una partícula sólida que produce una solución saturada á su alrededor), y que la solución que haya de crecer tenga un tono osmótico superior á la que le rodea. Solamente cuando tengamos estas condiciones se producirá un crecimiento osmótico, y siempre que se reunan observaremos el fenómeno.

El Sr. Lecha-Marzo ha observado el crecimiento osmótico de las sales de ciertos alcaloides en soluciones de los ácidos fosfo-túngstico y fosfo-molíbdico, y dice que no en todas condiciones se produce el crecimiento; en soluciones al 10 por 100 no se observa, y en cambio se produce en soluciones del ácido al 1 por 100. Este hecho no quiere decir más sino que el tono osmótico de una solución saturada de la sal del alcaloide no es superior al de una solución de ácido fosfo-túngstico al 10 por 100 y es superior á la solución del ácido al 1 por 100.

La mal llamada germinación del glóbulo rojo no es más que un crecimiento osmótico de la hemoglobina que el eritrocito encierra. Al colocar éste en una solución hipotónica de ácido pícrico se dilata hasta que, rompiendo por uno ó varios puntos la cascarilla de lipoides que la rodea, sale por estas grietas la solución de hemoglobina, que produce entonces crecimientos osmóticos con el ácido pícrico exactamente del mismo modo que el sulfato de cobre con el ferrocianuro potásico; la longitud de estas prolongaciones dependerá, naturalmente, de la relación entre los tonos osmóticos del glóbulo y la solución precipitante que le rodea.

En cuanto al punto principal de la comunicación del Sr. Lecha-Marzo, la suposición de que la mayor parte de las formas observadas por los histólogos son debidas á crecimientos osmóticos, no estoy conforme con él. Ha observado que granos de colores de anilina, colocados en una solución de ácido fosfo-túngstico ó fosfo-molíbdico, producen crecimientos osmóticos como *à priori* era de esperar, y generalizando supone que, al teñir el corte histológico, pudieran producirse crecimientos análogos. Ahora bien, para que estos crecimientos se produjesen tendría que existir dentro

del tejido un cuerpo soluble, sólido ó en solución de tono distinto á la de la anilina y cuya solución diese con la anilina un precipitado coloidal. La mayor parte de las substancias solubles del tejido fresco son albuminoideas que, por lo general, no producen ninguna clase de precipitados con las anilinas; además, los tejidos se fijan con cuerpos que, como el formol, insolubilizan las albúminas antes de teñirlas. Vemos, por lo tanto, que cuando sumergimos un corte en una solución de anilina para teñirlo, este corte no contiene materias solubles y si contiene una cantidad pequeñísima estarán en solución sensiblemente isotónica con la anilina, pues el corte ha sido lavado con agua después de fijado; no existen, por lo tanto, las condiciones indispensables para el crecimiento osmótico y éste no se podrá producir. En el caso de que los cortes sean mordidos antes de teñirlos, tampoco, si se opera bien, existen las condiciones para la producción de un crecimiento osmótico; se emplean siempre soluciones perfectamente filtradas y se lavan muy bien los cortes antes del baño del color; no existen, por lo tanto, en el tejido materias solubles, y si éstas existieran su tono no sería lo suficientemente distinto del de la anilina para producir el crecimiento; todo lo más podrían producir precipitados, contra los cuales los histólogos están ya muy en guardia.

Respecto á la opinión del Sr. Herrera, de que la sílice que se encuentra como impureza en los reactivos sea suficiente para producir los crecimientos osmóticos, me parece una hipótesis poco probable. La mayor parte de nuestros reactivos no contienen más sílice que la que hayan podido disolver de las paredes de las vasijas que los encierran, y esta cantidad es insignificante en los reactivos neutros ó ácidos; no creo que en una solución de sílice de esa concentración pueda producirse crecimiento osmótico de ninguna clase; para formarse las membranas se necesita una cantidad de materia muy ponderable.

El Sr. **Lecha-Marzo**: Si no tuviéramos una gran esperanza en los resultados de las investigaciones referidas, después de oir á nuestros dos ilustres colegas, afirmaríamos que más que nunca nosotros creemos encontrarnos en un buen camino.

El Sr. Madinaveitia nos repite el mecanismo de la formación de los crecimientos osmóticos. Que se consulte mi conferencia de Lieja, todos los trabajos de los autores que nos han precedido y la comunicación que me hizo el honor de dirigir el profesor Denigés, y se verá que ninguno habíamos olvidado esto. Es opinión personal nuestra, creemos que en el extranjero producirá gran extrañeza esta afirmación de que se puede predecir con seguridad cuándo obtendremos con nuestras células crecimientos osmóticos y cuándo no los obtendremos.

Asegura también nuestro compatriota que el hematíe produce estos crecimientos osmóticos exactamente del mismo modo que los originados por el sulfato de cobre en el ferrocianuro de potasio. También es exacto que en mis artículos publicados en colaboración con el profesor Welsch en los *Archives Internationales de Médécine légale*, en la *Revue de Médécine légale*, en la *Revista de Medicina y Cirugía prácticas*, los explicábamos del mismo modo.

No hemos dicho que la mayor parte de las formas observadas por los histólogos son debidas á crecimientos osmóticos. Lo que sostenemos es que la Histología no concedió toda la importancia que se merecen á la osmosis y á la cristalización en medios coloides, como origen de falsas estructuras.

Se declara que mis falsas estructuras se diferencian inmediatamente de las verdaderas. Efectivamente son producidas por colores de anilina y un reactivo, y las de las histologías son las imágenes de nuestras células, más ó menos variadas por la muerte y los reactivos. Se dice que ni son células de neuroglia, ni cilindro-ejes, ni

flagelos, y afirmábamos nosotros, en esta Sociedad, antes de haber sido advertidos, que cuando comparamos la prolongación originada de estricnina á un tubo de mielina, á un cilindro-eje, es para no decir que se parece á un tubo de cristal; que lo que tratábamos de demostrar y hemos demostrado con nuestras microfotografías, es el hecho de que una de las prolongaciones de estas pseudo germinaciones de los colores de anilina, puede ofrecer mayor complicación estructural aparente que un tubo nervioso; pero no hay identidad, pues esto es imposible.

La fijación, por el doble mecanismo de las estructuras artificiales, puede ser origen de todas ellas. Se olvida que recientemente Beretta, nuestro amigo el profesor Heger-Gilbert (de Bruselas) y otros autores señalaron las impurezas silíceas en los formoles del comercio.

Se asegura que si los reactivos contienen sílice en escasa cantidad, ésta no puede originar crecimientos osmóticos. Se olvida decir que Sachs no los obtuvo con los ferrocianuros purificados, porque éstos no contenían impurezas silíceas. Una lista interminable de trabajos de autores extranjeros, prueban todo el valor de las microquimias silíceas en la génesis de los crecimientos osmóticos.

Al discutir nuestros hallazgos se han olvidado muchas cosas.

Se ha afirmado que la *mayor parte* de los reactivos no contienen otra sílice que la que disuelven de las paredes de las vasijas.

El Sr. Achúcarro se alejó más aún de lo que nosotros decimos. Nos recordó trabajos como los de Moellgar, que ni favorecen ni perjudican nuestro programa. Nos dice que la noción de las estructuras modificadas y falsas no se borró ni un momento de la Histología. Lo reconocimos así al comenzar nuestra comunicación; los histólogos hablaron siempre de precipitados, de falsas estructuras, etc. Nissl introdujo el concepto de la imagen equivalente; pero todo esto debiera enseñarse en las cátedras, en las conferencias, en los Tratados de Histología, constituyendo un capítulo especial, con el estudio de los coloides, de la morfología de las soluciones, de los crecimientos osmóticos y de la cristalización en medios coloides; en una palabra, la morfología experimental, la pseudo-histología de los reactivos.

Nuestros hallazgos no significan gran cosa para algunos autores españoles. Se dice que son una extensión de los trabajos tan criticados de Leduc. Y Leduc mismo ha dicho lo contrario: que presentan la cuestión desde un nuevo punto de vista.

Desde el 1866 no se han descubierto nuevos crecimientos osmóticos, más que la pseudo-germinación de las gotas de mercurio por los vapores de yodo hallado por el profesor Stryzowski y su alumna Mlle. Risiecka, y todos los crecimientos osmóticos, tan numerosos, con alcaloides y colores de anilina, con los dos ácidos citados y con las sales de oro, encontrados por nosotros.

Se olvida también que, después de la publicación de nuestros trabajos, en Alemania comienzan á utilizarse para el estudio de los fenómenos de osmosis materias colorantes y el ácido túngstico y el azul de molibdeno (W. Biltz y Vegesack: *Zeitschr. f. phys. chem*, 66, 357, 1910).

Todo esto no debe interesarnos, y se olvida que el mismo Ehrlich, hace ya muchos años, con los colores de anilina y medios alcalinos, obtuvo precipitados globoides y se apresuró en seguida á señalar el hecho á los histólogos.

SESIÓN DEL 24 DE OCTUBRE DE 1913

La estructura secretora de la glándula pineal humana



POR

N. ACHÚCARRO

Desde hace algún tiempo, y en colaboración con los Sres. Sacristán, venimos estudiando la estructura de la glándula pineal humana con ayuda de los métodos modernos, y muy especialmente con el del nitrato de plata reducido, de Cajal, y con el del tanino y la plata amoniacal.

En dos comunicaciones (1) hemos publicado los resultados más importantes referentes á la organización del tejido conectivo y á la naturaleza de las bolas nucleares de Dimitrowa, interpretadas erróneamente, según nosotros, como manifestaciones secretorias. En dos comunicaciones (2) hemos descrito también elementos pluripolares y monopolares, situados en el parénquima unas veces, otras en los espacios intersticiales y que consideramos como células de naturaleza nerviosa.

Estas células han sido descritas posteriormente por Walter, quien se muestra, sin embargo, dudoso acerca de su naturaleza.

De un elemento, sin embargo, nos hemos ocupado muy poco, y es éste la neuroglia de la glándula pineal. Tiene, sin embargo, una importancia grande y pronto hemos de dar una descripción detallada de esta estructura.

Nuestros estudios se hallan muy lejos de haber llegado á su término, pues no consideramos agotada la capacidad de los métodos histológicos de que disponemos para revelar nuevos datos anatómicos. Sin embargo, hechos comprobados ó encontrados por nosotros justifican el que en esta comunicación demos una idea de conjunto de la estructura de la glándula, y muy especialmente en lo que se refiere á las relaciones que los ele-

(1) *Achúcarro* y *Sacristán:* Investigaciones histológicas sobre la glándula pineal humana. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas de la Universidad de Madrid*, 1912.

(2) *Achúcarro* y *Sacristán:* Sociedad Española de Biología, 1912.—Zur Kenntniss der Ganglienzellen der Menschlichen Zisbeldrüse. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, 1913.

mentos conocidos pueden tener con la función de secreción interna atribuída á la epífisis.

Los estudios clínicos y fisiológicos tienden á asegurar que esta función endocrina existe. Los casos de macrogenitosomía precoz, según Pellizzi, y los resultados de las operaciones de Foa extirpando la pineal del gallo joven, son los datos más expresivos que poseemos acreditando esta función.

En algunos animales, como en las aves, la epífisis tiene una estructura tan evidentemente glandular, que la discusión acerca de este punto no es posible. En los mamíferos, la forma de lobulillos con una luz interior ha sido sustituída por un parénquima con tendencia á la lobulación por el tejido intersticial, pero sin que existan conductos ó cavidades en el espesor de la glándula, por lo menos en el adulto.

En los mamíferos jóvenes el epitelio ependimario del ventrículo de la pineal da claras muestras histológicas de una actividad secretoria. Las células cúbicas ó cilíndricas encierran granos que se funden en globos, los cuales se vierten en el ventrículo, originando imágenes semejantes á aquellas que Pellizzi nos muestra en su trabajo sobre la secreción de las células de los plexos coroideos. Recientemente hemos observado estos fenómenos con toda claridad en el gato recién nacido.

Debemos suponer, sin embargo, que en la densa masa celular que forma el lobulillo pineal se encuentra la fuente más importante de su secreción específica.

Es indudable que la glándula pineal humana, en el estado adulto, se encuentra en vías de involución; pero, así y todo, los dos elementos fundamentales que componen la estructura de su parénquima son los mismos que encontramos en época más temprana y en la que se supone la glándula en función.

Como podemos ver en la figura semiesquemática que acompaña, se encuentran en la glándula pineal adulta verdaderos lobulillos rodeados de tejido conectivo y aislados en esta forma de los espacios donde yacen los vasos. En la figura no se ha mostrado la disposición del tejido conjuntivo perivascular, el cual penetra en parte en el espesor de los lobulillos por no obscurecer las relaciones de los otros elementos. (Tampoco, y por la misma razón, se ha dibujado el plexo nervioso en el interior del lobulillo).

El parénquima se halla compuesto de dos clases de células: células nerviosas y células de neuroglia. Los otros elementos que se encuentran aquí y allá, como células cebadas de Ehrlich y células pigmentarias, son menos importantes.

Acerca del carácter nervioso de ciertas células de la pineal humana, teñidas por nosotros con los métodos de Bielschowsky y de Cajal, existen

dudas por parte de Walter, que es el único autor que ha visto estas células en los tiempos recientes; pero nosotros, tanto por la morfología como por haber podido encontrar evidencias de neurofibrillas en el espesor de estas células, creemos poder afirmar que se trata de elementos nerviosos.

Muchas células de las del tipo nervioso son monopolares y se resuelven en prolongaciones piriformes alrededor de los vasos. Muchas de ellas se encuentran colocadas en la periferia de los lobulillos; algunas otras se ven, en cambio, en el centro. Dentro del parénquima mismo se encuentran botones terminales y terminaciones en anillo alrededor de las células que forman la masa principal del lobulillo. La mayor abundancia de estas terminaciones piriformes se encuentra, sin embargo, alrededor de los vasos intersticiales.

No todas las terminaciones piriformes, teñidas intensamente por la plata, pueden ponerse en relación de continuidad con las células nerviosas del interior del lobulillo. Muchas de ellas, aunque provienen del espesor de los lóbulos, pierden de intensidad de teñido rápidamente dentro del parénquima y la fibra que rematan no puede perseguirse con facilidad. Es posible que procedan, ó bien de células análogas á las ya descritas, ó bien de fibras nerviosas de que abunda mucho la trama de la epífisis.

Otras terminaciones nerviosas de las encontradas alrededor de los vasos provienen de fibras finas ameduladas que recorren los espacios perivasculares. Otras, en fin, rematan las prolongaciones nerviosas de células situadas en el espacio conjuntivo perivascular mismo.

Estas últimas células no son muy abundantes y su morfología es muy variable de unos á otros casos. No es raro encontrar varias formando verdaderos glomérulos en los que se entrelazan las prolongaciones protoplásmicas de un modo muy semejante á como sucede en los glomérulos de los ganglios del gran simpático. En muchas de ellas la riqueza en prolongaciones rematadas en bola es grande, la tortuosidad de estas prolongaciones y su irregularidad muy considerable. Son casi todas ellas pluripolares, á veces se tiñen en su interior las neurofibrillas, su nucleolo se halla compuesto de gránulos finos y es muy semejante al que conocemos en las células nerviosas.

De modo que en los espacios intersticiales de la glándula pineal humana existe un plexo complicado á donde acuden fibras exógenas, muy probablemente de naturaleza simpática, y fibras terminales de células nerviosas de aspecto como de espongioblastos de la retina, y finalmente, botones terminales de células semejantes á las del gran simpático y las cuales se encuentran en los espacios conectivos perivasculares.

Estas células nerviosas, sobre todo las del parénquima, evidentemen-

te corresponden á las encontradas por Cajal en el conario del ratón. Ni Cajal con el método de Golgi ni nosotros utilizando los métodos de la plata, hemos podido poner en evidencia el cilindro-eje de estas células. Su semejanza morfológica con las células amacrinas de la retina, el haber encontrado en ellas neurofibrillas y la gran electividad que tienen los métodos de la plata para demostrar sus aparatos terminales, acreditan que se trata de células nerviosas.

En el niño recién nacido que hemos examinado recientemente, las prolongaciones nerviosas dentro de espacios perivasculares son pequeñísimas y muy sencillas; en cambio, en las epífisis de los viejos, en las que abundan todo género de manifestaciones regresivas y en las que los espacios perivasculares se hallan dilatados y contienen gran cantidad de células granulo-grasientas, tanto las células como las prolongaciones son enormemente hipertróficas. Por lo tanto, en la determinación de la especial morfología de estas células intervienen evidentemente los cambios acaecidos en la glándula por efecto de su involución, que es tan temprana. Algunos detalles anatómicos de los descritos por nosotros en las células nerviosas de la epífisis tienen, pues, carácter patológico y son semejantes á aquellos que se ven en las células transplantadas y alguna vez en las fibras y células nerviosas en la vejez.

Como era de esperar, dado el origen embriológico de la glándula pineal, encuéntrase, además del elemento nervioso, una abundante trama de neuroglia en este parénquima. Puede decirse realmente que la neuroglia es la estructura fundamental de la pineal.

En el hombre adulto y en los animales estudiados por nosotros, tales como el carnero, el buey, el toro, etc., se ven células de neuroglia que son verdaderos astrocitos, cuyo protoplasma contiene células neuróglicas. Vénse igualmente un número extraordinario de fibras neuróglicas sueltas en el espesor del tejido. Otras células, con núcleo enteramente análogo á los astrocitos y que evidentemente son células de neuroglia también, tienen un carácter más protoplásmico. No se ven en ellas fibras, pero en cambio se ven gran número de granos que corresponden evidentemente á los gliosomas encontrados por Fiandt (1) y que son los granos hallados por Nageotte y por nosotros (2) en la corteza cerebral.

En algunos casos la hipertrofia neuróglica, por lo que se refiere á las fibras, transforma el tejido en verdadera gliosis, y en las pineales viejas es muy frecuente encontrar placas constituídas exclusivamente de fibras neuróglicas.

Las células, pues, más importantes de la glándula pineal, las que cons-

(1) *Fiandt:* Zieglers Beiträge, tomo LI.
(2) *Achúcarro:* Sociedad Española de Biología, 1913.

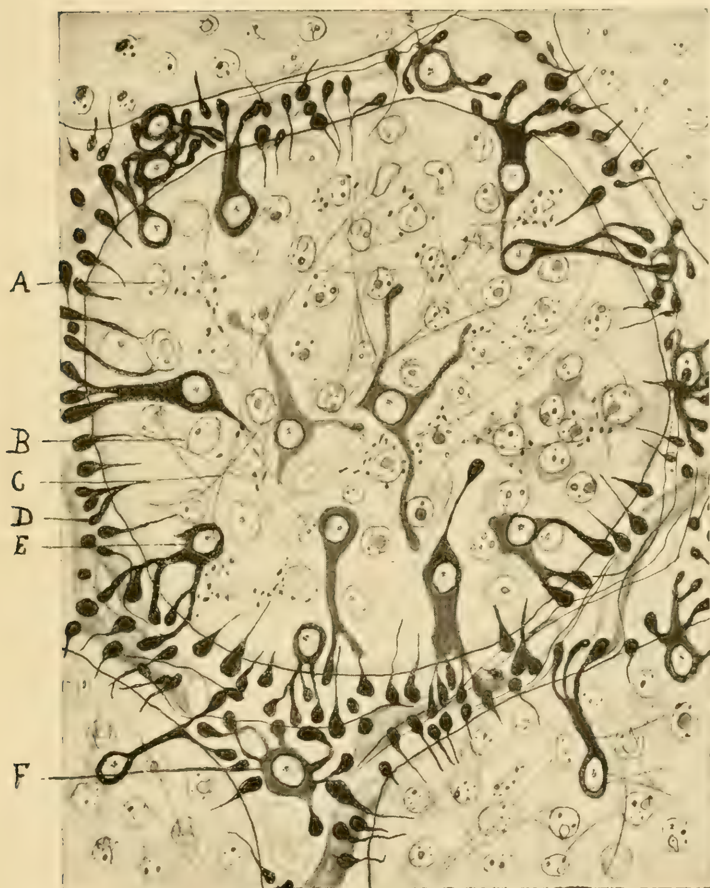


Fig. 1. — Diseño semiesquemático de la estructura de la glándula pineal humana en el adulto. — A, célula neuróglica con bola intranuclear; B, célula neuróglica; C, fibras neuróglicas; D, terminaciones nerviosas en los espacios conjuntivos perivasculares; E, célula nerviosa del interior del lobulillo, enviando apéndices piriformes al espacio perivascular; F, célula nerviosa de los espacios conjuntivos perivasculares.

tituyen el tejido fundamental, son células neuróglicas en una fase protoplásmica y conteniendo mitocondrias unas de ellas, en una fase escleró-sica y fibrosa las otras.

Es, pues, probable que, si como todo induce á creer, la glándula pineal tiene un papel de secreción hormónica, sean las células protoplásmicas de neuroglia las que desempeñan la parte más importante en esta secreción. No tenemos que violentar nada nuestras ideas previas acerca de la posible función secretora de las células neuróglicas para atribuirles en este caso tal clase de actividad. Las células ependimarias del ventrículo, las células epiteliales de los plexos coroideos, del mismo origen y naturaleza, tienen marcadas funciones secretorias. No hace tiempo también que Nageotte (1), fundado en ciertas granulaciones encontradas por él en la neuroglia, atribuía á esta estructura una función secretora.

Nosotros, estimando que la función de secreción interna debe ser realizada en la pineal por las células neuróglicas en fase protoplásmica, nos veríamos inclinados á pensar que en todos aquellos lugares del sistema nervioso en que abunda la neuroglia protoplásmica y sin fibras, y muy especialmente en la substancia cortical, estas células tienen un papel secretor.

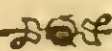
Es evidente que para aquellas células llamadas por Cajal satélites, y cuyas relaciones con los elementos nerviosos son tan estrechas que ha podido hablarse de simbiosis entre neuroglia y neuronas, esta interpretación, más ó menos explícitamente, suele admitirse. Pero el resto de la neuroglia protoplásmica de la corteza cerebral en relación con los vasos, pudiera tener también una actividad secretora y quizá formando parte de la armonía endocrina con las glándulas de este nombre.

En los últimos tiempos han aparecido muchas comunicaciones que señalan la importancia de alteraciones de las glándulas de secreción interna en la determinación de enfermedades mentales (2). Por otra parte, las relaciones entre unos y otros procesos, no tienen gran constancia como para poder establecer dependencias causales bien definidas. Si la neuroglia cortical tuviera realmente una secreción interna, pudieran, muchos trastornos glandulares concomitantes con enfermedades cerebrales, ser secundarios á las alteraciones neuróglicas y á su vez la neuroglia que tiene conexiones tan íntimas con los elementos nerviosos, ser un elemento intermedio entre alteraciones glandulares primarias y fenómenos patológicos nerviosos secundarios.

(1) *Nageotte:* Phenomènes de secretion des cellules néurogliques. Compt. Rend. Soc. Biol., 1913.

(2) *Parhon:* Rapport du Congrès de Gand, 1913.

Bien entendido, no se menciona aquí esta hipótesis sino como una última conjetura posible y quizá aventurada de nuestras investigaciones morfológicas sobre la glándula pineal.



La herencia en endocrinología

POR

G. MARAÑÓN

Queremos llamar la atención en esta nota sobre un hecho que nos parece muy importante en la patología de las secreciones internas, y sobre el que no hemos encontrado ninguna afirmación determinada en los numerosos autores que recientemente se ocupan de asuntos endocrinos.

Nos referimos á la forma de verificarse la herencia en estos enfermos.

En general, la mayor parte de las afecciones de las glándulas de secreción interna predisponen para que los descendientes padezcan la misma enfermedad. Es bien conocido, por ejemplo, el hecho de que el bocio simple y el cretinismo son, á veces, afecciones familiares. En el bocio exoftámico se observa también esta misma herencia *homóloga*, y de la que recientemente han recogido muchos casos Chapu (1) y Goldberg (2). En el gigantismo y en la acromegalia son también conocidas las opiniones de Schwoner, Bonardi, Pik, Verstraeten, Achard y Loeper, Motais, etcétera, que demuestran la existencia de esta transmisión homóloga (negada, sin embargo, por otros, como Marie, Ducherneau, etc.).

Chapu habla también de una *herencia indirecta*, refiriéndose á la combinación hereditaria del mal basedowiano con el histerismo y con otras enfermedades nerviosas. Pittaluga, en su Memoria sobre la acromegalia (3), ha reunido 26 casos, en los que se observaba esta misma existencia de procesos nerviosos ó psiquiátricos en los antecedentes de los acromegálicos. Pero ninguno se refiere á la herencia indirecta, en el sentido de que *unas afecciones endocrinas se transformen en otras, á través de la herencia.*

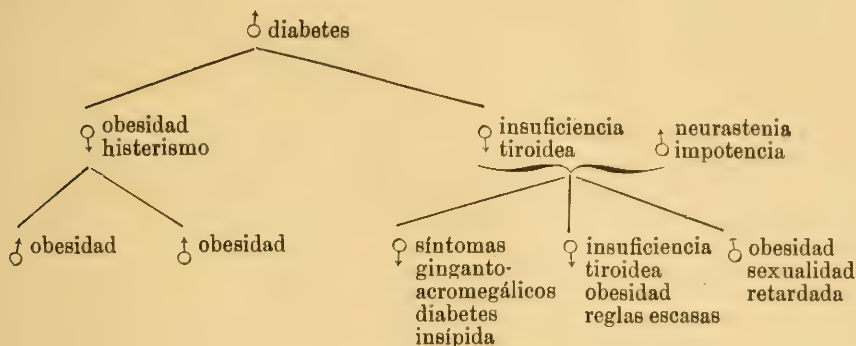
(1) *Chapu:* De la descendance des Basedowiennes. Th. de París, 1910.

(2) *Goldberg:* Ueber die Erblichkeit der Basedowschen Krankeit. Inaug. disert. Berlín, 1910.

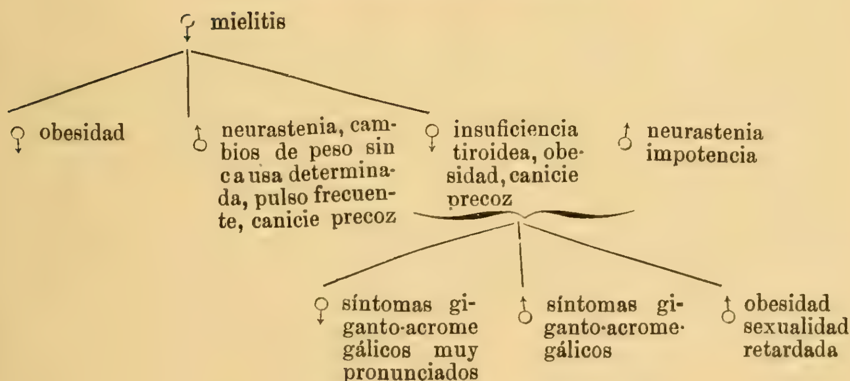
(3) *Pittaluga:* Contributo alla casuistica dell'acromegalia. *Annali dell'Istituto Psychiatrico della Università di Roma*, vol. I, 1902.

Nosotros hemos recogido algunas observaciones interesantes, que exponemos á continuación:

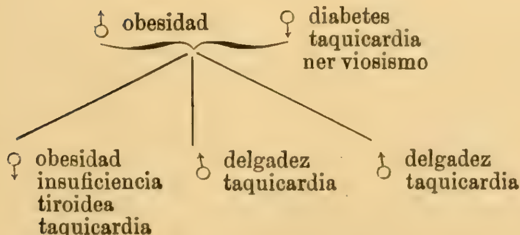
Observación I.—Familia C.



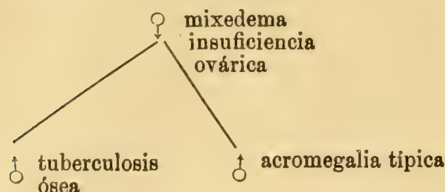
Observación II.—Familia A.



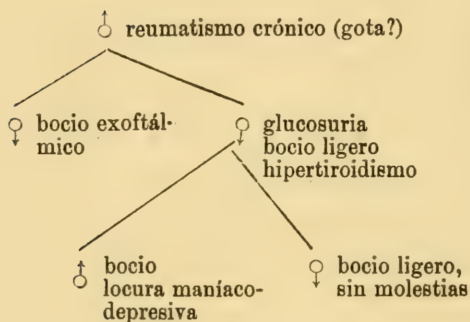
Observación III.—Familia L.



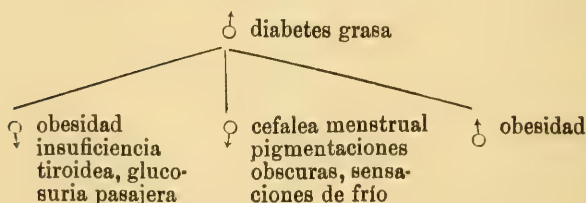
Observación IV.—Familia O.



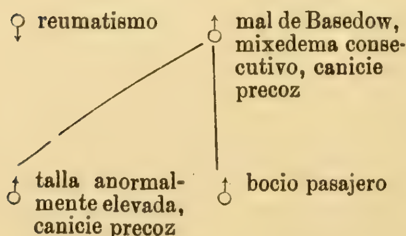
Observación V.—Familia Y.



Observación VI.—Familia F.



Observación VII.—Familia Ll.



Estas observaciones, que seguramente se repetirán cuando se fije en esta dirección la atención de los clínicos, demuestran, en primer lugar, que lo que se hereda no es la predisposición para una afección determinada de una glándula endocrina, sino la fragilidad de todo el sistema endocrino, que se manifiesta por alteraciones de diversas glándulas en cada etapa hereditaria. Falta (1) estudia la significación de las glándulas de secreción interna para la *constitución* del organismo, y dice que hay individuos con sistema endocrino estable, débil ó inestable. Esta *inestabilidad del sistema endocrino total* es, pues, lo que se hereda y da lugar á las observaciones descritas. He aquí, pues, un nuevo argumento que unir á los otros muchos que demuestran la unidad de todo el sistema endocrino.

Obsérvese que en los cuadros genealógicos expuestos, la relación hereditaria se manifiesta casi siempre entre dos glándulas: el tiroides y la hipófisis; de las ocho observaciones, en tres una madre hipotiroidea dió origen á hijos hiperpituitarios (observaciones I, II y IV). En la observación VII, un padre, primitivamente hipertiroideo y secundariamente hipotiroideo, engendró un hijo también hiperpituitario. Estas cuatro observaciones pueden compararse á las muchas que demuestran que la insuficiencia tiroidea (mixedema y sobre todo cretinismo) en un individuo, determina con frecuencia una reacción hiperfuncional de la hipófisis del mismo individuo; en efecto, Rogowitsch, Gley y otros, han visto experimentalmente engrosarse la hipófisis después de la tiroidectomía (nosotros, sin embargo, no hemos comprobado esto en el conejo, que ha sido también el animal elegido por dichos investigadores), y clínicamente Schilder y otros han hallado una hiperplasia hipofisaria en los niños cretinos. Este *síndrome pluriglandular reaccional*, que se puede observar en un determinado enfermo, puede, pues, desarrollarse también separadamente á través de la herencia en los diferentes individuos de una familia.

En muchas ocasiones, los trastornos endocrinos no dan lugar, como puede verse en los cuadros, á los síndromes clásicos definidos (mal de Basedow, mixedema, acromegalia, etc.), sino á sintomatologías atenuadas, en las que los síndromes aparecen poco marcados; por ejemplo, en la observación IV, el hiperpituitarismo del hijo da lugar á una acromegalia típica; pero en las observaciones I, II y III, el hiperpituitarismo de los hijos producía, no la acromegalia verdadera, sino un estado de desarrollo óseo excesivo, de talla anormalmente alta, pies y manos grandes, mandíbula algo prognática, ligera cifosis, cabello y vello abundantes; en una palabra, un *hábito hiperpituitario*, que en algunas de las obser-

(1) *Falta:* Die Erkrankugen der Blutdrüsen. Berlin, 1913.

vaciones se combina con ciertos síntomas funcionales, como sudores abundantes, taquicardia, poliuria, etc., que completan este temperamento hiperpituitario. La significación de estos estados atenuados es muy grande para la Patología.

Otro hecho del mayor interés: en las familias patológicas descritas, se ve que los enfermos del sistema endocrino aparecen mezclados con otros del grupo de las enfermedades de la nutrición. En la observación I, la diabetes y la obesidad figuran, en la genealogía patológica, unidos á los trastornos tiroideos é hipofisarios; en la observación II, figura también varias veces la obesidad; en la observación III, la diabetes y la obesidad se combinan con las manifestaciones tiroideas; en otras (V y VII), encontramos el reumatismo, y así sucesivamente. Algunas observaciones antiguas indicaban ya la existencia de afecciones tiroideas (mal de Basedow) y de diabetes en una misma familia (Reeve Manby, Eberson, Lorand) (1). En la ascendencia de los acromegálicos se ha observado la existencia de diabetes (Lancereaux y otros), de reumatismo crónico (Gubian, Claus, Köster). En el reciente libro de Falta, ya citado, se expone la genealogía patológica de una familia, en la que la gota, la obesidad y la diabetes se entremezclaban con afecciones funcionales del tiroides.

Todos estos datos insinúan la íntima relación patogénica que seguramente existe entre las llamadas enfermedades de la nutrición y las enfermedades endocrinas; en la actualidad, son muchos los hechos que demuestran que la diabetes y la obesidad son trastornos dependientes de perturbaciones de las secreciones internas; respecto á la gota, esta demostración no es tan segura todavía. La aparición de unas y otras enfermedades en la misma familia, parece indicar que en el determinismo de ambas influye una común predisposición.

Y precisamente en la patología de la nutrición era desde muy antiguo, como se sabe, un hecho de observación vulgar esta misma transformación á través de la herencia que hacemos notar en la presente comunicación para la patología endocrina; es decir, que la descendencia de los gotosos, por ejemplo, puede manifestar la herencia, no en nuevos gotosos, sino en diabéticos, en obesos, etc.

El estudio de la herencia en endocrinología nos deja, pues, entrever nuevos lazos entre la función de las diversas glándulas de secreción interna entre sí y entre las perturbaciones funcionales de estas glándulas y las enfermedades de la nutrición.

(1) *Lorand:* Die Entstehung der Zuckerkrankheit. Berlín, 1903.

Alteraciones del aparato reticular de Golgi en las células gigantes y otros elementos del tubérculo

POR

J. RAMÓN Y FAÑANÁS

El aparato reticular de Golgi de las células gigantes del tubérculo, así como el de otros elementos celulares de este granuloma infeccioso, fué ya descrito hace unos cinco años por Verson (1), discípulo de Golgi, empleando el método, creado por este sabio, para la coloración selectiva del retículo que lleva su nombre.

La descripción hecha por Verson del retículo de las células gigantes se reduce simplemente á indicar que en tales elementos la situación de dicho aparato es siempre central, ocupando la parte de protoplasma desprovista de núcleos; añade que su volumen y complejidad dependen del número y de la situación marginal de los citados núcleos; en fin, hace ver que cuando los núcleos residen en un polo de la célula y el soma ofrece límites indecisos, el consabido aparato reticular suele aparecer roto, dispuesto en dos ó tres islotes, pero sin llegar á perder el aspecto de red. A causa de esta fragmentación, pregúntase Verson si la ruptura del retículo de Golgi no implicaría una fase regresiva de la célula gigante. Parécele toda respuesta prematura. En cuanto al origen de estos corpúsculos colosales, apunta la posibilidad de que resulten, según afirman algunos anatomo-patólogos, de la conglutinación ó reunión de varios elementos.

En nuestras observaciones (2), recaídas principalmente en la tuberculosis humana, hemos utilizado de preferencia la fórmula urano-formol, recomendada por nuestro maestro Cajal. Nuestro propósito ha sido analizar las alteraciones del retículo de Golgi en sus relaciones con la degeneración de las células de Langhans y epitelioides del tubérculo.

El material utilizado en nuestra exploración ha sido la pléyade ganglionar cervical de una niña de doce años, en la que la extirpación efectuóse cuando el proceso estaba bastante avanzado. Los cortes del granuloma, coloreados por el proceder de Weigert y Gabett, mostraron en bastante cantidad bacilos de Koch. Por lo demás, los focos caseosos eran

(1) *Verson: Archivio per la Scienzie Mediche*, vol. XXXII, 1908.
(2) *Fañanás: Boletín de la Sociedad de Biología*, sesión de 21 de Junio de 1912.

abundantes y característicos. El otro material estudiado procede de una niña de ocho ó diez años, en la que los ganglios extirpados ofrecían el proceso tuberculoso en fase más temprana y sin indicios todavía de focos caseosos. En ambos casos aparecieron en las células curiosas alteraciones del citado retículo, que confirman y amplían las concisas descripciones hechas por Verson.

Hasta ahora poco se sabe del modo de comportarse el retículo de Golgi en las infecciones. Los trabajos aparecidos acerca de la patología del retículo, han recaído principalmente sobre las células nerviosas lesionadas por causas mecánicas ó por efectos de inflamación traumática. Así, Marcora (1), estudiando el núcleo del hipogloso cuatro días después del arrancamiento del nervio, logró descubrir fragmentaciones y otras lesiones del mencionado retículo de Golgi (células motrices). Cajal (2), aludiendo á los efectos de su fórmula urano-formol, cita también, ya en el cerebro del conejo rábico, ya en el cerebro del gato traumatizado, rupturas y simplificaciones y una como resolución granulosa del retículo de las pirámides, disgregación tanto más acentuada cuanto más cercanas residen las neuronas á la herida. En fin, Tello (3), estudiando la producción de granulomas experimentales no infecciosos á favor de la inyección subcutánea ó intraperitoneal de Kieselgur en los cobayas, señala, aparte de algunos curiosos hechos acerca del mecanismo genético de las células gigantes, ciertas perturbaciones del mismo retículo. Entre ellas, describe las producidas por los bordes cortantes de las diatomeas que, al ser englobadas por el protoplasma de los ya mencionados elementos, secciona y desmenuza el retículo, convirtiéndole en depósito de bastoncitos y gránulos sueltos, esparcidos irregularmente por el cuerpo celular. La fragmentación del aparato reticular se exagera, de tal modo, que á veces se resuelve en una especie de polvo que palidece desde la periferia al centro protoplasmático.

Nuestro estudio de las alteraciones del aparato reticular es muy incompleto; muy en breve lo ampliaremos en el terreno experimental, es decir, analizando los retículos de las células del tubérculo producido por inoculación del bacilo de Koch en el cobaya ó en el conejo común, sacrificando al efecto los animales en fases sucesivas del proceso. Por hoy nos limitaremos á dar un pequeño avance de las lesiones de dicho retículo, halladas en el tubérculo humano.

Retículo de las células gigantes normales. — Cuando la degeneración caseosa se halla muy avanzada, difícilmente se encuentra corpúsculo gi-

(1) *Boletino Soc. med. chir. di Pavia*, núm. 2, 1908.
(2) *Cajal: Trab. del Lab. de Inves. biol.*, tomo X, 1912.
(3) *Boletín de la Sociedad de Biología*, sesión de 21 de Febrero de 1913.

gante provisto de retículo normal. Todos aparecen en fases más ó menos avanzadas de destrucción. Sin embargo, cuando los focos caseosos son poco abundantes, suele encontrarse algún elemento gigante, casi siempre alejado de los focos necróticos, cuyo aparato endocelular se muestra completamente normal. De acuerdo con las descripciones de Verson, el citado aparato ocupa la parte central de la célula, distanciado de la corona de núcleos, y afectando disposición claramente de red. A veces, el aparato se polariza ó ladea un tanto. Por lo común, sus más gruesos trabéculos tienen tendencia á formar haz, de suerte que el conjunto del retículo preséntase alargado. Hay que hacer notar que la normalidad del retículo guarda una relación constante con el número de núcleos, hasta el punto de no haber podido observar una célula gigante con retículo completo de más de ocho ó diez núcleos (fig. 1, A).

Fases de disgregación inicial. — En cuanto la célula gigante es atacada por el bacilo de Koch y se crean en ella vacuolas y reblandecimientos protoplasmáticos, el retículo inicia su dispersión. Esta disgregación, de que presentamos un ejemplo en la figura 2, suele comenzar por la porción de dicho aparato cercana á la región de los microbios (1). Según se aprecia en dicha figura, un trozo del retículo se disemina por casi todo el protoplasma, donde está representado por grumos y bastoncitos gruesos, mientras que otra porción se pulveriza finamente.

Precisamente esta porción tan pulverizada coincide generalmente con la zona protoplasmática donde habitan los microbios. Cerca de la mitad del aparato consérvase casi íntegramente (A) y confinado en un extremo celular.

La disgregación no se inicia de igual manera en todos los corpúsculos gigantes. Hay muchas variantes que verosímilmente dependen del yacimiento microbiano y, por lo tanto, de la línea de avance de la desorganización protoplasmática causada por las bacterias. En la figura 3 mostramos un corpúsculo de grandes dimensiones, cuyo aparato de Golgi parecía empezar su disgregación por toda su masa á la vez. Tan sólo en uno de sus cabos celulares mantiénense un tanto la densidad y disposición originarias. Por lo demás, en semejante célula descúbrese cierta región (B) donde la pulverización es notable y donde los gránulos se reunen en pléyade esferoidal. Esta zona de máxima fragmentación carece de núcleos. Puesto que, según es sabido, hay cierta incompatibilidad topográfica entre los núcleos y el bacilo de Koch, dicha zona de pulveri-

(1) Por comparación de células gigantes teñidas por los métodos de Ziehl-Neelsen con las impregnadas por el nitrato de plata, hemos podido ver esta relación, que naturalmente no puede sorprenderse en los corpúsculos fijados por el uranoformol.

zación reticular podría corresponder á la residencia de alguna colonia microbiana.

En la figura 4 mostramos otro tipo de disgregación que podríamos designar coronario ó en forma de cintura. Trátase siempre de elementos de Langhans, de talla enorme, cuyos núcleos se agrupan en la parte central del protoplasma. En tales elementos la masa del retículo aparece alargada en el sentido del eje mayor de la célula, mostrando un hueco interior relleno de núcleos y con escasos grumos y bastoncitos, y una faja elíptica constituída por el acúmulo de grumos, filamentos granulosos y restos del retículo (A). En algunos parajes preséntanse claros que corresponden á vacuolas.

Otra variante de disgregación reticular aparece en la figura 5. Todo el protoplasma se presenta con grumos y bastoncitos pertenecientes al retículo fragmentado; pero su masa principal está representada por cuatro acúmulos irregulares, dispuestos periféricamente y rodeados de núcleos. En la región central, donde se congregan los órganos nucleares, el retículo alcanza el máximo de desintegración.

Por último, vamos á describir el tipo de destrucción completa. Las células gigantes, con iniciación de disgregación del retículo, suelen encontrarse á bastante distancia de las zonas caseosas; por lo tanto, su vitalidad, aunque comprometida, suele mantenerse algún tiempo, como lo prueba la excelente coloración nuclear que presentan por los métodos ordinarios y el aspecto finamente granuloso del protoplasma. A medida que nos acercamos á los focos de intensa caseificación, el protoplasma degenera, vacuolándose y reblandeciéndose, y los núcleos se colorean difícilmente por la hematoxilina y anilina. Ahora bien; en estos territorios más ó menos próximos á las zonas caseosas, suelen residir los corpúsculos gigantes de retículo totalmente desintegrado. Uno de éstos lo reproducimos en la figura 6. Nótese que el retículo se encuentra en un estado de completa pulverización; sus gránulos, más finos en la periferia que en el centro, aparecen diseminados por la totalidad del soma. De trecho en trecho, destacan en el protoplasma ciertas regiones transparentes que corresponden á vacuolas. En fin, los mismos núcleos, en gran número, coloréanse difícilmente por las anilinas básicas.

Los citados elementos de retículo plenamente desintegrado residen, según dejamos dicho, cerca de las masas caseosas. Hay, sin embargo, excepciones á esta regla. Alguna vez hemos encontrado en plena zona productiva ó periférica del tubérculo, algún corpúsculo gigante con retículo totalmente fragmentado. Es más; se nos figura que el estado de sufrimiento del protoplasma, en presencia de las toxinas microbianas, repercute en el retículo antes que en los demás órganos celulares, tradu-

ciéndose por la emigración parcial de los trabéculos y su ruptura y pulverización.

En nuestras preparaciones se presentan, aparte de las disposiciones ya descritas, otras curiosas y sobre cuya significación no podemos formular juicio definitivo. Una de ellas es la reproducida en la figura 7. Se trata de una célula gigante portadora de muchos núcleos, dispuestos en corona irregular. El protoplasma se estira en expansiones ramificadas, penetrantes, entre los corpúsculos inmediatos, y en el centro destaca un aparato de Golgi, voluminoso, concentrado y con señales de disgregación incipiente. El hecho más interesante de estas células es el que habitan el centro de un sistema de corpúsculos conectivos satélites (*a*, *b*, *c*), los cuales recuerdan, por su disposición concéntrica, al *cumulus proliger* de la vesícula de Graaf. En efecto, en torno del elemento gigante aparecen tres ó cuatro hileras concéntricas de elementos conectivos embrionarios, poliédricos ó estrellados, provistos de un núcleo central y de su correspondiente aparato de Golgi, situado en un lado del protoplasma. Los corpúsculos de la hilera más interior (*a*) están alojados en fosetas labradas en el protoplasma de la célula gigante y contienen un retículo pequeño; las alineadas en la región más periférica tienen talla más considerable y poseen retículos también de mayor tamaño. De vez en cuando vense corpúsculos conectivos, cuyo aparato de Golgi preséntase disgregado (*d*), lo que no coincide siempre con actos de proliferación. Por último, en torno de este acúmulo celular percíbese una cápsula conectiva bien deslindada de la trama citógena del ganglio, trama cuyos elementos menudos y poliédricos (D) son portadores de unos pequeñísimos y granulosos retículos. No damos más detalles de las disposiciones de los aparatos reticulades de Golgi de todas estas variedades de células conectivas, porque son ya bastante conocidas después de los importantes trabajos de Verson, Deineka y Cajal.

Hasta ahora ignoramos de una manera cierta la verdadera significación de estas disposiciones quísticas ó de escoltas pericelulares que aparecen con gran frecuencia en los ganglios linfáticos, en el interior de los folículos mismos. ¿No cabría pensar que la célula gigante, convertida en infecciosa por su carga microbiana, ha determinado en torno suyo una reacción defensiva, algo así como un tubérculo dentro de otro tubérculo? ¿O es que la célula gigante mortificada, obrando como cuerpo extraño, es asiento de un proceso de enquistamiento y destrucción? En pro de la primera opinión encontramos el hecho de que las células de Langhans, acompañadas de escoltas corpusculares concéntricas, suelen tener muchos microbios y hallarse en fases francamente destructivas. Acerca de esto carecemos de datos suficientes que nos permitan formular una opinión segura.

Células epitelioides. — Encuéntranse un gran número en los ganglios linfáticos tuberculosos, sobre todo en su fase primera y de infiltración celular. En la figura 8 hemos dibujado algunos elementos de esta naturaleza, más comunes en nuestras preparaciones.

Como forma típica normal, por lo que se refiere á la disposición de su aparato de Golgi, consideramos las reproducidas en A y D. Nótese que sus retículos, situados en un polo celular tocando al núcleo, son densos, íntegros, con la clásica forma de red complicada de estrechas mallas. Sus trabéculas destacan bien del resto del protoplasma á causa del color negro intenso (nitrato de plata reducido).

La opinión más general es que las células epitelioides dan lugar, por crecimiento y división de sus núcleos, no seguida de fragmentación protoplasmática, á los corpúsculos gigantes. Pero durante su evolución y antes de adquirir su forma definitiva, pueden ser atacados por el bacilo de Koch. De ahí las vacuolizaciones protoplasmáticas, la palidez nuclear y sobre todo la destrucción del aparato de Golgi. Por lo demás, el proceso destructivo reproduce las disposiciones ya descritas en las células gigantes.

Estas diversas fases de destrucción del retículo han sido sorprendidas tanto en la zona proliferativa del tubérculo como en la de desintegración celular. Claros signos de alteración corpuscular muestran, por ejemplo, el corpúsculo representado en la fig. 8, B, en donde dicho aparato ofrécese resuelto en asas varicosas, aisladas unas de otras y concentradas solamente en uno de los polos celulares. Cuando la lesión es más avanzada, los restos del retículo siguen ocupando un polo celular, pero las asas están en menor número y como achicadas (fig. 8, C). En fin, las últimas fases de destrucción reticular se manifiestan por una pulverización de las trabéculas que se diseminan por la totalidad del protoplasma. En algunos casos esta dispersión es desigual, mostrando ciertas concentraciones (fig. 8, D). Hay células sumamente vacuoladas, en que los gránulos mismos parecen haberse achicado, palideciendo de una manera notable. También en los elementos conectivos ordinarios (fibroblastos comunes) podemos distinguir dos tipos, uno con un aparato reticular concentrado y perfectamente polarizado, y otro con el aparato resuelto en gránulos más ó menos dispersos por el protoplasma. Nada tendría de particular que estos últimos elementos alojaran microbios en su interior.

De los datos anteriores podemos sacar algunas conclusiones, cuyo valor es bastante relativo, ya que sólo podrá fortalecerse cuando una investigación experimental en los animales nos permita aclarar muchas incertidumbres. Así y todo, damos por ciertas las siguientes proposiciones:



Figura 1.



Figura 2.

J. Ramón y Fañanás: **Alteraciones del aparato reticular de Golgi en las células gigantes y otros elementos del tubérculo.**



Figura 3.



Figura 4.

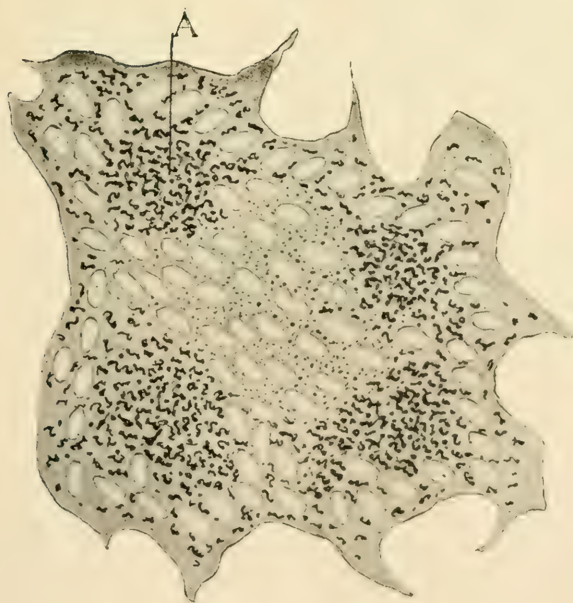


Figura 5.



Figura 6.



Figura 7.

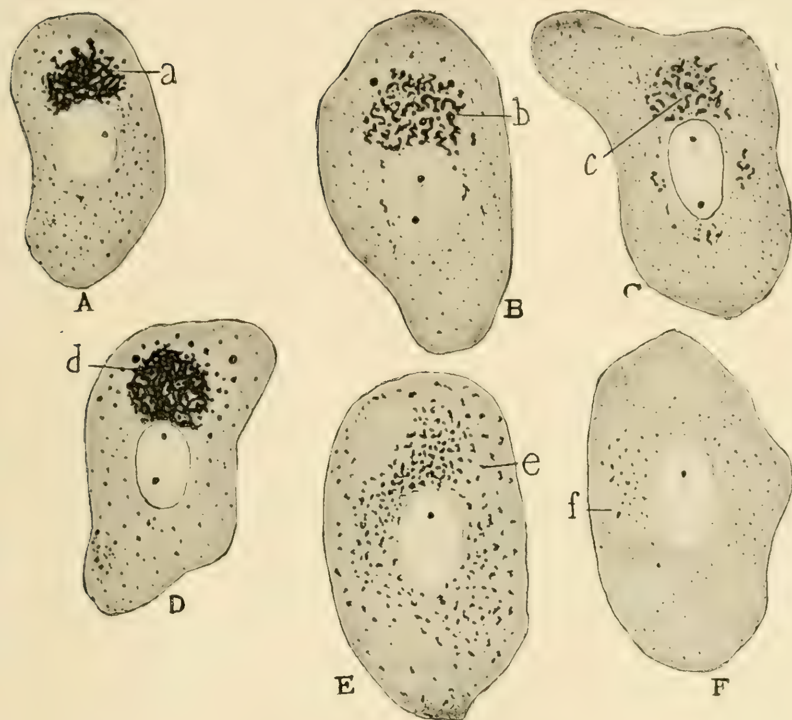


Figura 8.

1.ª Que el retículo de Golgi existe constantemente en las células gigantes del tubérculo humano y en todos los elementos conectivos embrionarios, según notaron ya Verson y Deineka. El aparato endocelular en estado normal es único, denso, reticular, central ó concentrado en un polo protoplasmático; y esto lo mismo en los elementos gigantes multinucleados como en los epitelioides y conectivos embrionarios.

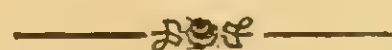
2.ª La multiplicación del núcleo no arrastra necesariamente la del aparato de Golgi, aun cuando Perroncito y Deineka hayan demostrado que este retículo es capaz de dividirse con ocasión de la mitosis normal.

3.ª En las células del tubérculo (gigantes, epitelioides y embrionarias), el citado aparato resulta sumamente sensible á los estímulos patológicos, iniciando las alteraciones protoplasmáticas en presencia del microbio ó de sus toxinas.

4.ª La alteración principal del aparato de Golgi empieza, desde luego, por la fragmentación de la red, después por la ruptura y aislamiento de sus trabéculas, y finalmente, por la desmenuzación y dispersión de éstas por todo el protoplasma.

5.ª Es probable, como supone Verson, que esta disgregación y destrucción del aparato de Golgi de las células gigantes, representen fenómenos represivos provocados por las toxinas microbianas.

6.ª Como verosímil aceptamos que el estado ó fase de pulverización completa del retículo coincida con la muerte de las células gigantes.



Sobre algunos experimentos de reanimación

POR

ANGELO DE DOMINICIS (1)

Mis experimentos sobre el ahogamiento en agua oxigenada han demostrado que los animales pueden presentar manifestaciones vitales durante un tiempo triple que en el agua común. Y como no sólo el período de las respiraciones terminales, sino también todos los de la asfixia especial resultaban prolongados, deduje que podría indicar una acción preponderante del defecto de oxígeno en la determinación de la fenomenología asfíxica.

Experimentos ulteriores ejecutados en animales (gatos) recién nacidos,

(1) Nota presentada por el Dr. Lecha-Marzo.

en los cuales es notoria la notable resistencia á la asfixia, han dado resultados concordantes, habiéndose podido observar manifestaciones vitales prolongadas durante más de tres horas.

* * *

En vista de que la penetración en la circulación de agua oxigenada prolongaba tan evidentemente la vida, nos hemos preguntado si la inyección endotraqueal no podría eventualmente también ejercer una influencia sobre el restablecimiento de las manifestaciones vitales, en especial cuando se actúe en tal sentido inmediatamente después de detenerse la respiración.

Por todas las vías, sobre bases fisiológicas bien conocidas, se ha propuesto la inyección de oxígeno, y entre las más recientes recordaré la subcutánea y la inyección endovenosa en el envenenamiento por el óxido de carbono; pero es claro que sólo la vía endotraqueal, la absorción pulmonar, es la que puede, en determinadas condiciones, actuando por conducto de la circulación menor, utilizar una acción mayor y suficiente sobre la circulación mayor.

No son de temer, como lo atestiguan mis experimentos en los conejillos de Indias, inconvenientes próximos ó remotos por esta vía de introducción, no nueva, aunque ciertamente menos usada. Nosotros empleamos el perhidrol Merck (1 : 19), esto es, una disolución al 1 $^1/_2$ por 100, en cantidad de 1 cent. cúb. próximamente por kilogramo y aun mayor cantidad en los animales pequeños.

* * *

Entre los experimentos positivos que actualmente poseo, quiero llamar la atención sobre los realizados en los conejos y los conejillos de Indias, en el envenenamiento rápido por óxido de carbono por medio de gas del alumbrado.

Después de la insensibilidad corneal, la dilatación pupilar, la relajación general y la completa cesación de los movimientos respiratorios terminales, y mientras, por otra parte, el corazón late todavía, se ejecuta con la máxima rapidez la inyección de agua oxigenada en la tráquea, haciendo en seguida compresiones del tórax (para favorecer la difusión del líquido en el pulmón) y también el descenso de la cabeza (con la intención de favorecer el aflujo de sangre arterializada á los centros nerviosos). Según mis experimentos, no parece que tales maniobras puedan ser útilmente prolongadas más de media hora.

Cuando se ha operado con mucha presteza y el experimento es afortu-

nado, se puede asistir al restablecimiento de la respiración, primero en forma de respiraciones profundas raras y después de disnea; pero los animales no tardan en reanimarse completamente y sin que luego aparezcan perjuicios especiales derivados de la maniobra practicada.

* * *

Es indudable que se pueden presentar objeciones numerosas á las presentes investigaciones. Con las compresiones del tórax entra en acción también la respiración artificial, el estímulo mecánico del corazón y también la introducción de líquido en la circulación, y por otra parte, dada la necesaria rapidez de la intervención, en el caso particular puede resultar difícil excluir en absoluto la posibilidad de un restablecimiento de manifestaciones vitales, aun sin una influencia especial del agua oxigenada.

Con todo, nos parece que tales objeciones chocan contra algunos hechos comprobados, aun prescindiendo de los experimentos de comprobación. También en los animales, en los que persisten las contracciones cardíacas, si se abre el tórax, la inyección de agua oxigenada acelera las pulsaciones y aumenta la energía del impulso cardíaco, al tiempo mismo que el corazón se llena y el agua oxigenada penetra en las cavidades.

* * *

La conclusión de todo esto debe ser que el agua oxigenada por vía endotraqueal es también un medio adecuado para reforzar la actividad cardíaca, y como sabemos que aumentar esta potencia significa tener mayores probabilidades de reconstituir el trípode vital, no es posible poner en duda que, aunque sea sólo en determinados casos, la inyección de agua oxigenada en la tráquea pueda concurrir á la reanimación. Y no es ciertamente extraño al propósito práctico el caso en que, aun acudiendo mientras el corazón late todavía, á pesar de ello no se consigue restablecer la vida.

Ulteriores investigaciones en este sentido, teniendo presente la base fisiológica y la inocuidad de la intervención, podrán lógicamente dar más extensión á tales experimentos y además reunir indicaciones más específicas, para casos más próximos á los que se han referido en la presente nota.

Nuevos reactivos para la revelación de huellas digitales invisibles

POR LOS DOCTORES

MAESTRE Y LECHA-MARZO

Las impresiones digitales no sirven sólo para demostrar la personalidad de un reincidente cuando ésta pasa por segunda vez por una oficina de identificación. Algo más se puede hacer. Las huellas visibles ó invisibles encontradas en los lugares del crimen, por comparación con las impresiones de sujetos sospechosos pueden servir para demostrar su presencia en los mismos. Otras veces, aun no señalando á nadie como sospechoso, impresiones análogas se encuentran en una colección de fichas y el peritaje ha servido para señalar al autor del delito.

La demostración experimental que hacemos es la primera en nuestro país en esta nueva fase de la dactiloscopia, que en aspectos nuevos parece que seguirá interesando á los investigadores.

Cuando se compara la huella revelada en una botella, un vaso, etc., con la de un sujeto sospechoso, se precisa, para afirmar la identidad, la demostración de 12 puntos homólogos y ninguna diferencia. Cuando este número asciende á 30, 40, etc., las seguridades son mayores; pero refiriéndonos al caso de 12 puntos homólogos, se comprende que cuando están reunidos en una figura déltica ó en un núcleo, son más decisivos que cuando pertenecen á las líneas marginales. Nuestro colega de Lyon, Edmond Locard, acaba de demostrar recientemente, y podemos confirmarlo, que examinando un pedazo de cresta en las ampliaciones (225 en superficie, 24×30 en pruebas), se pueden encontrar nuevos detalles característicos por el estudio de los poros ú orificios sudoríparos. Para esto, la fotografía y la revelación de huellas ha alcanzado una gran precisión. Nosotros proponemos hoy reactivos que permiten una revelación delicada. Por otra parte, habría interés en olvidar algunos métodos que no dan buenos resultados en la práctica y que sólo revelan las huellas hechas experimentalmente.

En resumen, se puede decir que unas substancias, como los polvos vegetales, el carbón, los óxidos ó sales metálicas pesados ó alcalinoterrosos, revelan las huellas por adherencia física al depósito de grasa fresco de las líneas papilares recientes; otros hacen aparecer las huellas por la acción de cuerpos que no se adhieren mecánicamente al relieve del dibujo, sino químicamente á las grasas y ácidos grasos — afirma

Stockis —, que constituyen este relieve, como el Soudan, el Scharlach de anilina.

Antes de toda revelación procedemos á la fotografía de las huellas con iluminación oblicua (véanse los trabajos de Windt y Kodicek, de Stockis, de Welsch y nuestros).

Los métodos y reactivos propuestos para la revelación son muchos. Recordamos los siguientes:

1.° Vapores de yodo (Aubert y Colier, Van Beneden, Burnier y Reiss, técnica nueva de Stockis, con la que se obtienen huellas fijadas).

2.° Vapores de ácido ósmico.

3.° Vapores de ácido fluorhídrico.

4.° Rojo Soudan disuelto en alcohol de 70° (Corin y Stockis).

5.° Solución de nitrato de plata y exposición á la luz.

6.° Tinta (Forgeot), particularmente las tintas á la alizarina, que contienen compuestos ferrosos y un derivado de índigo.

7.° Negro animal.

8.° Plombagina (Bertillon).

9.° Cerusa (Bertillon).

10. Calomel.

11. Sulfato de barita (Stockis).

12. Bióxido de manganeso.

13. Oxido de cobre.

14. Oxido rojo de plomo.

15. Yoduro de plomo (Locard).

16. Rojo Soudan III (Corin y Stockis).

17. Indofenol (Stockis).

18. Scharlach Rot.

19. Rojo inglés (mezcla de óxido férrico y arcilla) (Stockis).

20. *Tête morte violete* (nosotros).

21. Polvo de oro (De Dominicis).

Como resultado de nuestras pesquisas proponemos, con el olvido de alguno de los reactivos y métodos citados (como el empleo de los ácidos ósmico y fluorhídrico, de las soluciones de nitrato de plata, del negro animal, de la plombagina, del indofenol, del polvo de oro y de algunos otros), otros nuevos reactivos. Nos ha extrañado que el negro de platino no haya sido estudiado por ninguno de los autores que nos han precedido, cuando el platino es uno de los elementos más densos que se conoce, y el negro de platino es más denso aún que la esponja de platino. Lo mismo sucede con el polvo de uranio. La demostración que damos, repitiendo nuestros experimentos ante la Sociedad, demuestra la excelencia de estas materias en la revelación de huellas invisibles. Las am-

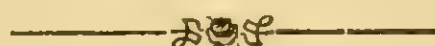
pliaciones fotográficas que presentamos demuestran los caracteres que se revelan en el interior mismo de las crestas y que no es cosa indiferente la elección de materias reveladoras.

Demostramos con estas pruebas, cómo otro reactivo no ensayado, el blanco de zinc, permite una revelación de huellas en los soportes negros, que no desmerece y tal vez aventaja á las obtenidas con los polvos blancos, ya propuestos por otros autores.

Proponemos también el empleo de la yodo-eosina en polvo, mezclada íntimamente con licopodio.

También, si en una cápsula se deposita el polvo de yodo-eosina y se eleva la temperatura, los vapores violáceos de yodo revelan muy bien las huellas digitales sobre el papel, el cristal, etc. Las impresiones que se obtienen son bastante fijas.

Con particular interés recomendamos el ensayo del negro de platino para la revelación de huellas en papel. La cantidad de substancia que se gasta en la revelación de las huellas de un anónimo es escasísima. En algunos casos de la práctica policial hemos revelado huellas que otros procedimientos no demostraban.



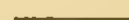
SESIÓN DEL 21 DE NOVIEMBRE DE 1913



Un nuevo proceder para la impregnación de la neuroglia

POR

S. RAMÓN CAJAL



Los métodos de coloración de la neuroglia son muy numerosos. Todos ellos tienen su utilidad y sus inconvenientes. Excepción hecha del proceder de Achúcarro y del nuestro, basado en la fijación en urano-formol, pecan también de harto complicados. Además, suelen ser algo caprichosos, particularmente en lo tocante á la coloración de las células neuróglicas de la substancia gris. Un recurso nuevo, no mejor que los conocidos hasta hoy, pero sumamente simple y bastante constante, puede ser provechoso, aunque no sea más que para contrastar, en los puntos dudosos ó controvertidos, las revelaciones de los demás. Sólo á este propósito

comunicamos la técnica siguiente, que nos ha dado resultados bastante estimables en el cerebro humano indurado en formol.

El principio del método está basado en una propiedad particular del bicloruro de mercurio. Cuando un corte de tejido nervioso indurado en formol se somete á la acción aislada del cloruro de oro, las substancias orgánicas de la substancia gris y blanca provocan la reducción lenta de este reactivo, bajo la forma de precipitado rosáceo ó violado. Esta coloración carece de acción selectiva, ó la posee insignificante, hacia las fibras meduladas, y no puede, por tanto, ser ventajosamente aprovechada en citología nerviosa. Pero si á la solución áurea se añade un acelerador que sea al mismo tiempo un mordiente, por ejemplo, el sublimado corrosivo, la reducción se hace muy enérgica y el depósito metálico, de color violáceo ó gris azulado, escoge casi exclusivamente, por lo menos al principio, el protoplasma de los corpúsculos neuróglicos.

La aceleración de los procesos de reducción mediante la incorporación á una solución reductible de cierta cantidad de sublimado, que obra á guisa de fermento, es un hecho bien conocido de los químicos. Lo que nosotros ignorábamos era que, á más de su actividad catalítica, el sublimado, en el caso que nos ocupa, actúa dislocando el precipitado áureo hacia un factor histológico, que en condiciones ordinarias jamás atrae el cloruro de oro. La sal mercurial parece, pues, obrar simultáneamente como mordiente y como acelerador.

Abandonando, por ahora, el mecanismo físico-químico de este proceso, para cuyo esclarecimiento carecemos todavía de los antecedentes y datos necesarios, resumamos brevemente las manipulaciones del procedimiento:

1.° Piezas de cerebro ó cerebelo humano, son induradas en formol al 12 por 100 durante uno á dos días ó más. La reacción se obtiene también en trozos de centro nervioso que hayan permanecido cuatro, seis y ocho días en el fijador formólico; pero las coloraciones más enérgicas corresponden siempre á las piezas del primero ó del segundo día.

2.° Ejecución de cortes, de 10 á 20 micras, en el microtomo de congelación. Al objeto de impedir la acción dilatadora del agua pura, los cortes se recogen y guardan en solución formólica al 4 ó 6 por 100.

3.° Lavado rápido de las secciones, por dos veces, en agua destilada.

4.° Inmersión de las mismas en el líquido siguiente:

Cloruro de oro al 1 por 100.................. ...	10	cent. cúb.
Bicloruro de mercurio al 5 por 100...........	10	—
Agua destilada................................	50-60	—

La dilución de este líquido en su mitad de agua da también buenos

resultados, pero la reducción exige más tiempo (lo menos veinticuatro horas).

Los cortes serán manipulados con palillos, en vez de agujas, y sumergidos en el líquido precedente, que se guardarán en la obscuridad de doce á dieciséis horas. La reducción comienza desde la primera hora y aumenta progresivamente en las siguientes, adquiriendo los cortes tono violáceo. El calor (37° á 50°) acelera notablemente la reacción, pero sin ventaja, antes con daño de la selección del precipitado. Sin embargo, en invierno, una temperatura de 28° á 35° pudiera ser ventajosa.

5.° Lavado de las secciones en abundante agua destilada.

6.° Y, finalmente, deshidratación en alcohol, aclaramiento en esencia de clavos ó de orégano y montura en bálsamo.

Los cortes se conservan bien, por lo menos durante algunas semanas, evitando el sol y la luz difusa enérgica; mas como á pesar del lavado, la trama nerviosa pudiera contener cierta cantidad de cloruro de oro no reducido, pero reductible ulteriormente bajo la acción de la luz ó espontáneamente, no habrá inconveniente en fijar los cortes en una solución de hiposulfito de sosa. Con todo, esta operación, facilísima y harto conocida, adolece de un inconveniente: las secciones se dilatan en contacto del fijador, distensión y adelgazamiento que llegan al máximo al bañar aquéllas en agua destilada. En tal estado, la deshidratación en alcohol provocaría en los cortes, según es bien sabido, una crispación y obscurecimiento fatales á la buena conservación y estudio de los elementos. Algo cabe atenuar, empero, esta fastidiosa retracción, deshidratando, según se aconseja para casos análogos, en alcoholes de progresiva concentración (alcohol al 50, al 75, al 90, etc., por 100); pero resulta mucho más cómodo y eficaz proceder de la manera siguiente:

7.° Los cortes, previamente bien lavados, se sumergen, durante diez minutos ó más, en el líquido fijador siguiente:

Hiposulfito de sosa	10	gramos.
Agua	100	cent. cúb.
Alcohol absoluto	100	—

8.° Lavado, por dos veces consecutivas, en alcohol al 40 por 100.

9.° Extraídos los cortes de este baño, donde habrán perdido el hiposulfito de sosa en exceso, llévanse con paleta bien limpia al porta-objetos, donde se extenderán cuidadosamente con suave pincel. Espérase entonces á que los cortes pierdan el exceso de humedad, por semidesecación espontánea (sin llegar naturalmente á desecación perfecta); en tal estado, se adhieren íntimamente al porta y pueden sufrir, sin moverse, la

acción del alcohol del 75 por 100 y después la del absoluto. (Unas gotas de éste, rápidamente pasadas por el porta-objetos, bastarán).

10. Tras la deshidratación, sigue el aclaramiento en esencia de clavos ó de orégano, xilol y bálsamo ó damar. Para aclarar pudiera emplearse, también con ventaja, la creosota, aplicable aun á los cortes imperfectamente deshidratados, es decir, á los tratados en el alcohol á 79°.

El examen de las preparaciones exige el empleo del 1'30 apocromático de Zeiss y del concentrador Abbe á toda abertura, es decir, sin diafragma. La luz amarilla de las lámparas eléctricas es más favorable, por acción de contraste, que la blanca del mechero Auer ó la del cielo azul, á causa del tono rosa general del fondo, en el cual destacan en violado obscuro, ligeramente granuloso, las células neuróglicas y sus expansiones. Las neuronas y sus apéndices, así como la mielina, forman parte del fondo rojizo general y no deben exhibir, en los buenos preparados, ninguna selección especial, salvo los núcleos que ostentan color azul grisáceo, fuertemente granuloso.

Según ocurre también con otros métodos, por ejemplo, con el excelente de Achúcarro, la neuroglia de la substancia blanca se tiñe más enérgica y constantemente que la de la substancia gris. Aparecen asimismo, intensamente teñidos, los pies ó apéndices gruesos fijados en los vasos. La reacción varía algo con el grado de frescura del cadáver y con el tiempo de permanencia de las piezas en el formol. En general, cabe afirmar que los apéndices neuróglicos son tanto más finos cuanto más reciente la muerte y más sano el cerebro (muerte por accidente).

De notar es también que los cortes correspondientes á regiones profundas de las piezas (circunvoluciones interiores) donde el fijador penetró lentamente, dan mejores reacciones que las circunvoluciones superficiales, rápidamente empapadas en formol. En dichas circunvoluciones profundas lógrase, sobre todo, mejorar la impregnación de la capa molecular, á menudo pobremente teñida. Acaso una inclusión de las piezas en gelatina, encaminada á rodear los cortes de una película protectora, elimine este inconveniente del método.

Dejamos dicho que el depósito metálico sobre las células neuróglicas es granuloso. Este defecto se atenúa algo, mezclando al fijador un 20 por 100 de acetona ó de alcohol metílico. Con esta adición se evita la ligera hinchazón de las piezas, provocada por el formol. El alcohol metílico obra, además, como acelerador de la reducción, pudiendo ya obtenerse ésta desde las seis á las diez horas. En fin, cuando las piezas propendan á dar coloraciones pálidas y de poco contraste, será útil aumentar la energía del baño áureo incorporándole unas gotas de solución saturada de nitrato de cobre (para 20 cent. cúb. de baño se añaden tres ó cuatro



gotas del licor cúprico; el líquido debe adquirir tono ligeramente verdoso). Gracias á tal modificación, abréviase más de la mitad el tiempo de impregnación, que resulta también mucho más vigorosa. La adición al baño de oro ó al fijador de diversas sales metálicas ó de substancias orgánicas (piridina, hidrato de cloral, clorhidrato de morfina, nicotina, aldehídos, quinona, etc.), determinan modificaciones, ora en la intensidad, ora en la virtud selectiva del depósito áureo. En el estudio de estas curiosas variantes de la reacción, cuyas ventajas son aplicables á casi todos los tejidos, estamos actualmente empeñados. De ellas trataremos en comunicación ulterior.

Acerca de los resultados de este proceder de teñido y de su comparación con los obtenidos por los demás métodos de coloración de la neuroglia, nos ocuparemos en otro lugar. Baste solamente hacer notar, por ahora, que las imágenes logradas coinciden, *mutatis mutandis*, con las conseguidas por el método de Achúcarro y por el nuestro del uranoformol. La substancia gris y blanca muestran un plexo continuo, extremadamente rico y complicado; pero no una *red difusa*, como sostienen algunos neurólogos de la escuela de Held. Todas las fibras de este plexo (recias, cortas y varicosas en la substancia gris, finas y largas en la blanca) se ven claramente surgir del cuerpo del corpúsculo neuróglico. En general, el depósito metálico recae, no sobre las fibras diferenciadas coloreables con el método de Weigert, sino sobre el protoplasma granuloso envolvente de las mismas. Eventualmente, tíñense, aunque con débil intensidad, las neuronas; en este caso el núcleo adquiere color obscuro, reservando en blanco el nucleolo; en tanto que el protoplasma, de tono violáceo granuloso, presenta por claro los grumos de Nissl.

Alteraciones del ganglio cervical superior en enfermedades cerebrales

POR

N. ACHÚCARRO

Utilizando el método del nitrato de plata reducido de Cajal con fijación en alcohol amoniacal, he estudiado el ganglio cervical superior en varios casos de enfermedades cerebrales: parálisis general, parálisis general juvenil, demencia senil, demencia arterio-esclerótica, demencia precoz, epilepsia, enfermedad de Korsakow.

Los tipos celulares descritos en la clásica monografía de Cajal sobre los ganglios simpáticos humanos (1), se encuentran fácilmente en nuestras preparaciones.

Del mismo modo se comprueban fácilmente los detalles sobre las disposiciones glomerulares, sobre los ovillos ó nidos pericelulares y peridendríticos descritos por Cajal.

De unos á otros casos de los examinados por mí, existen variedades morfológicas considerables, de las cuales muchas deben estimarse como alteraciones patológicas.

Los ovillos ó nidos pericelulares, formados, como es sabido, por una fibra medular aferente al ganglio simpático, presentan variaciones considerables. Estas se refieren, tanto á la abundancia de ovillos, como á la riqueza de las vueltas de las fibras nerviosas y al espesor y cualidades de estas fibras.

Respecto á la abundancia en ovillos, hemos observado que los casos de parálisis general, epilepsia y enfermedad de Korsakoff, pero especialmente los casos de parálisis general, contienen una cantidad de ovillos pericelulares mayor que los otros casos. En unos casos se muestran más abundantes también las bolas terminales y de trayecto en las fibras que forman los nidos.

Más notables aún son las variaciones respecto al espesor de las fibras formadoras de los ovillos. En un caso de epilepsia hemos visto ovillos verdaderamente colosales, de innumerables vueltas, alrededor de células atróficas (fig. 1). En el mismo caso, la fibra de un ovillo colosal se hallaba revestida de una vaina con el aspecto que con el método empleado

(1) *Cajal:* Las células del gran simpático del hombre adulto. *Trab. del Laboratorio de invest. biol. de la Univer. de Madrid*, tomo IV, 1906.

adquiere la vaina de mielina (fig. 2). Se trata, pues, de un ovillo hipertrófico y medulado, formando un aparato algo semejante á las disposiciones de los órganos sensoriales periféricos y en cuyo interior no se ve ya vestigio de la célula, envuelta en un principio por la fibra nerviosa.

En el caso mencionado de epilepsia, pero especialmente en el de enfermedad de Korsakoff, existe abundantemente distribuído un proceso de hinchazón y de vacuolización celular, que transforma la estructura protoplásmica en un panal finamente elaborado (fig. 3).

El pigmento, que tanto abunda en muchos casos y también en estos que contienen las células finamente vacuoladas, no se encuentra en el interior de éstas. La transformación vacuolada del protoplasma comienza ordinariamente por la periferia, pero dejando una zona de protoplasma denso como una cápsula que forma el límite celular. En fases más avanzadas, todo el protoplasma de una gran célula aparece vacuolizado, mientras que de la cápsula de denso protoplasma que limita la célula arrancan robustas prolongaciones.

Estas prolongaciones protoplásmicas sufren en focos ó en extensiones considerables de su trayecto análoga alteración á la experimentada por el protoplasma. Sobre todo, se manifiesta esta modificación protoplásmica en forma de bolas terminales.

Otras veces, y en las mismas preparaciones, observamos trozos considerables de las prolongaciones, los cuales han perdido toda estructura. Su aspecto es homogéneo, su teñido muy intenso y sus bordes irregulares. Igualmente alcanza esta alteración á las bolas y mazas terminales, en donde á veces se combina con la alteración vacuolar, dando origen á una variedad grande de formaciones (fig. 4).

El pigmento de las células nerviosas, teñido fuertemente por la plata, abunda mucho en las preparaciones de demencia senil y arterio-esclerótica y en las de demencia precoz. En estas últimas es más frecuente encontrar pigmento en gruesos bloques. De todos modos, el dato de las alteraciones del pigmento examinado con la plata no tiene un gran valor, pues en todos los casos existe una relativa abundancia.

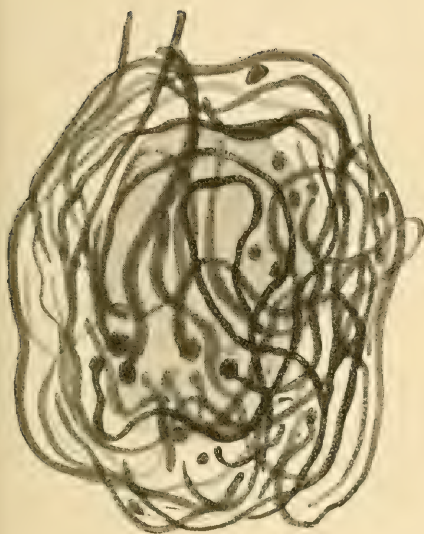


Fig. 1. — Ganglio simpático cervical superior. Epilepsia. Célula envuelta en un ovillo de fibras anormalmente espesas.

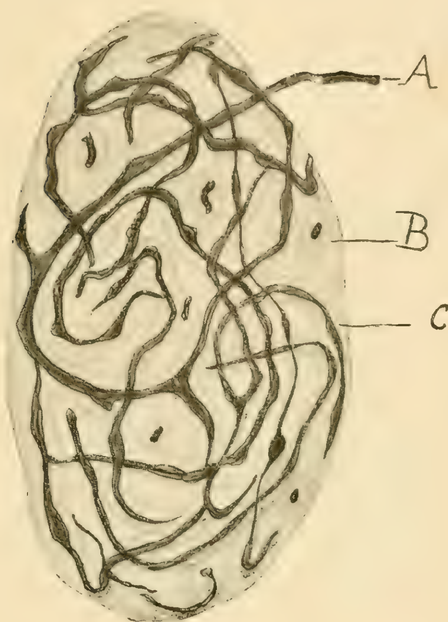


Fig. 2. — Ganglio simpático cervical superior. Epilepsia. Ovillo colosal formado por una fibra medulada.—A, fibra antes de formar el ovillo; B, fibra cortada transversalmente; á su alrededor se reconoce la vaina de mielina; C, vaina medular cortada longitudinalmente.



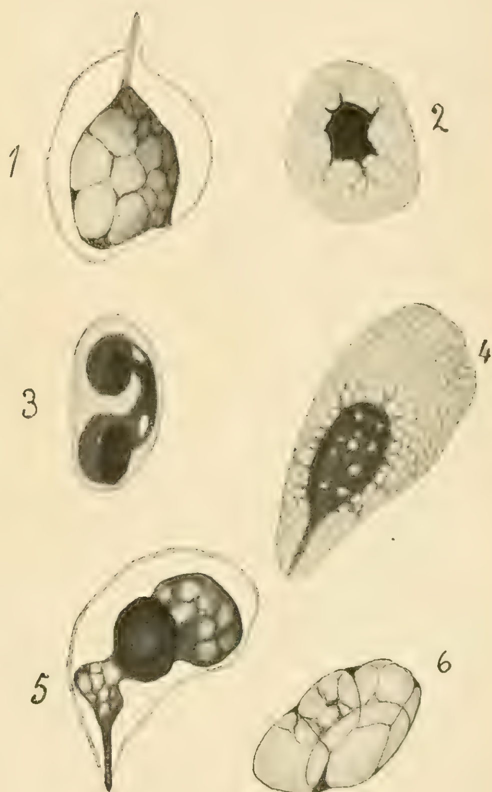


Fig. 3. — Ganglio simpático cervical superior. Enfermedad de Korsakow. Célula habiendo sufrido la vacuolización fina en todo su protoplasma con excepción de una zona limitante, de la que parten prolongaciones terminadas en dilataciones igualmente vacuoladas.

Fig. 4. — Ganglio simpático cervical superior. Enfermedad de Korsakow. Aspectos distintos de bolas aisladas ó rematando á las prolongaciones. — 1 y 5, bolas terminales, con cápsula; 3, bola aislada en la que se ha condensado en el interior un núcleo de substancia argentófila; 2, 4 y 6, diversos aspectos de la vacuolización.

Sobre la mononucleosis de la viruela

POR

G. MARAÑÓN Y P. GAL

Seguramente es la viruela la enfermedad infecciosa que ha dado lugar á menos investigaciones sobre sus reacciones hematológicas; sin embargo, en términos generales, están precisados, en los trabajos aparecidos hasta ahora, los principales datos de este asunto.

Por lo que hace á la fórmula leucocitaria, la viruela es considerada en la actualidad como una infección de reacción mononuclear. Pero en la descripción aceptada por todos hay algunos puntos inexactos. Nosotros hemos observado en las enfermerías del Hospital General de Madrid un número considerable de casos de viruela, en todas sus formas, durante las epidemias del invierno de 1911 y del verano de 1913 (aparte de los casos endémicos que en ninguna época faltan en las Clínicas), y creemos que puede fijarse con toda precisión la marcha de la reacción leucocitaria en esta enfermedad. En 1911 publicamos un primer trabajo (1), en el que principalmente nos referíamos á la marcha de la leucocitosis total. En la presente nota apuntamos el resultado de la totalidad de los casos observados, con los datos cuantitativos y cualitativos de la fórmula leucocitaria. He aquí las conclusiones de nuestros análisis:

En la viruela existe una leucocitosis moderada que oscila, en general, de 10.000 á 15.000 leucocitos por milímetro cúbico.

Esta leucocitosis se inicia en el período de la erupción y *aumenta hasta alcanzar su máximum en el período de supuración*, disminuyendo á partir de este punto, y conservándose hasta bien avanzada la convalecencia. (En los libros suele leerse que el máximum de la leucocitosis corresponde al período de la vesiculación, lo cual, como se ve, no es en modo alguno exacto).

Los casos en que no se observa esta marcha de la leucocitosis, sino una disminución del número de leucocitos á medida que avanza el proceso infeccioso, suelen ser los casos muy graves, que terminan frecuentemente por la muerte.

(1) *Marañón* y *Mendivil:* Asociación para el Progreso de las Ciencias. Congreso de Granada, 1911, y *Revista Clínica de Madrid*, Octubre 1911. Véase en este trabajo la bibliografía sobre la cuestión.

Desde el punto de vista cualitativo, la leucocitosis de la viruela es una leucocitosis de mononucleares. Los polinucleares neutrófilos descienden á la cifra de 45 á 55 por 100, á expensas de los elementos mononucleares. De éstos, las células mononucleares grandes permanecen por debajo de 10 por 100. El aumento se verifica, pues, merced á los elementos linfocitarios.

En las descripciones de los autores franceses (Courmont y Montagard, Weil), se lee que la fórmula leucocitaria de la viruela está constituída por un reducido número de linfocitos (0'5 por 100, según Weil) y por una crecida proporción de «mononucleares medianos» (45 por 100: Weil). En la descripción de Naegeli y en las de los libros alemanes, se incluye esta leucocitosis entre las linfocitosis típicas. A nuestro juicio, esta opinión es la exacta; en la sangre de nuestros enfermos había de un 30 á un 45 por 100 de linfocitos típicos. A veces esta cifra era aún superior, dando casi la impresión de ciertos estados leucémicos. Claro es que estas diferencias sólo pueden depender de la diversidad de criterio para la clasificación de los elementos leucocitarios; pero á la vista de las preparaciones nos parece indudable su inclusión en el grupo de los linfocitos.

Esta linfocitosis se presenta muy precozmente. En el período de erupción ya aparece con toda claridad, y en esto estriba su extraordinario valor diagnóstico. La linfocitosis *aumenta progresivamente hasta el período de vesiculación* y disminuye luego hasta el fin de la enfermedad, conservándose también, como la leucocitosis, mucho tiempo después de la convalecencia.

La intensidad de la linfocitosis no indica nada contra el buen pronóstico de la enfermedad; por el contrario, la linfocitosis, escasa en los primeros períodos del mal, corresponde á los casos más graves; las caídas bruscas de la linfocitosis, en el curso de la infección (y sobre todo en el período de las vesículas), son de un pronóstico malo. En varios casos hemos podido comprobar este hecho.

Además de este aumento de los elementos linfocitarios, la leucocitosis de la viruela se caracteriza por la presencia de ciertos elementos anormales, de gran tamaño, de núcleo excéntrico muy cromático, redondeado, ovalado ó de contorno irregular, y un protoplasma abundante, que con la coloración de Giemsa aparece suavemente teñido de azul, con vacuolas claras. Estos elementos fueron clasificados por Courmont como células irritativas de Türk, y esta interpretación, aceptada por todos, parece ser la exacta. En los casos nuestros, la presencia de estos elementos era casi constante. Se observa en todos los períodos, siempre en escaso número (0'5 á 1 ó 2 por 100), y su falta no la hemos podido relacionar con ningún incidente clínico de la enfermedad.

El gran número de veces que hemos repetido estas observaciones y la constancia de los resultados obtenidos, nos permiten considerar como fijada en estos términos la forma leucocitaria de la viruela.

Prácticamente, el examen de esta fórmula tiene un valor extraordinario, pues, como se sabe, los caracteres expuestos — leucocitosis, linfocitosis, presencia de células de Türk — no se observa en ningún otro proceso infectivo de los que en los primeros momentos, hasta que la erupción está bien definida, pudieran confundirse con la viruela, y principalmente el sarampión y el tifus exantemático. En esta última enfermedad afirma, sin embargo, recientemente, Rabinowitsch (*Deutche medizinische Wochenschrift*, 1913, núm. 45) que «es muy característica la presencia de células irritativas de Türk». Este hecho, que nosotros no hemos confirmado (nuestras observaciones hematológicas en esta enfermedad son, es cierto, poco numerosas), ni hemos visto citado en otros trabajos sobre la hematología del tifus petequial, tampoco induciría, de ser cierto, á diagnósticos erróneos, pues la linfocitosis bastaría á separar hematológicamente á ambas infecciones á pesar de aquel carácter común.

Muchos clínicos han insistido en la dificultad que frecuentemente se ofrece, en los primeros días de la enfermedad, para hacer el diagnóstico diferencial exacto de la viruela y aislar los casos á tiempo, sobre todo en estos tiempos en que abundan cada vez más los casos leves y atípicos, en los que, á veces, ni aun la erupción es suficiente para formar el juicio clínico. Pues bien, nosotros podemos asegurar el valor inapreciable que en estas circunstancias tiene el examen leucocitario de los casos dudosos, permitiendo fundar una opinión certera, con una constancia que hacen que esta sencilla investigación represente uno de los más útiles servicios que el Laboratorio puede prestar al médico práctico.

Sobre revelación y fijación de huellas dactilares invisibles

POR

DOMINGO SÁNCHEZ Y SÁNCHEZ

Sabido es de cuantos me conocen que desde hace mucho tiempo vengo dedicando preferente atención á los estudios antropológicos, especialmente á la Antropotecnia y Antropometría en sus relaciones con las determinaciones étnicas. Mas, recientemente y por motivos que no hace al caso mencionar aquí, he tenido necesidad de extender mis investigaciones al campo de la que pudiéramos llamar Antropología individual en sus aplicaciones á la identificación personal; y como la Dactiloscopia forma parte interesantísima de esta rama de la Antropomorfología, he ahí justificada mi intervención en el asunto á que se refiere esta comunicación.

Conocía y manejaba los procedimientos técnicos empleados, tanto en la determinación de los caracteres métricos como en la de los dactiloscópicos, y conocía también teóricamente los métodos y procederes utilizados por la Policía judicial para revelar las impresiones papilares invisibles dejadas por los delincuentes en el lugar del crimen, ó las existentes sobre diversos objetos que, por cualquier motivo, pudieran significar testimonio utilizable para el esclarecimiento de ciertos hechos constitutivos ó no de delito. Pero desconocía prácticamente la técnica empleada con este último objeto y deseaba aprenderla.

A este fin, y temeroso de no interpretar con la debida exactitud las descripciones halladas en las obras y publicaciones de que disponía, recurrí á mi buen amigo el sabio médico legista Dr. D. Antonio Lecha-Marzo, cuya competencia en estos asuntos es justamente reconocida, y me complazco en consignar aquí el testimonio de mi gratitud hacia el joven é ilustrado médico, que, con una amabilidad digna del mayor encomio, ejecutó en mi presencia algunas experiencias sumamente interesantes de revelación de huellas invisibles sobre papel, porcelana y otros objetos. Sus aptitudes de hábil maestro quedan suficientemente demostradas con decir que le bastaron dos lecciones tan sólo para lograr que un alumno como el que tiene el honor de dirigiros la palabra, que apenas podrá calificarse de medianamente aprovechado, haya podido, en el breve tiempo transcurrido de entonces acá (poco más de un mes), no sólo comprobar los resultados de la mayor parte de los reveladores utilizados

en los principales gabinetes de Europa y América, sino también ensayar otros muchos é intentar procedimientos de fijación de las huellas reveladas.

En esta ocasión me limito á exponer los resultados de mis experiencias sobre revelación y fijación de huellas invisibles, con reveladores pulverulentos, en papel, las cuales han sido ejecutadas, con objeto de que tuvieran cierto carácter de generalidad, sobre papeles comunes, el empleado ordinariamente para cuartillas y el de cartas usado en el Laboratorio de Investigaciones biológicas, dirigido por el Dr. Cajal, donde hemos realizado la mayoría de nuestras observaciones.

Los reveladores pulverulentos utilizados hasta ahora en los diferentes gabinetes y laboratorios, son, al parecer, en número relativamente escaso.

Edmond Locard, en su interesante obra *L'Identification des recidivistes* (París, 1909), que es quizá el resumen más completo de los procedimientos de identificación, cita únicamente los siguientes:

Grafito, propuesto por Bertillon y utilizado por este sabio y por Reiss con buenos resultados.

Scharlach Roth, propuesto por Stockis.

Negro de humo, usado por Roscher, mezclado con polvo de licopodio.

Carmín pulverizado, propuesto también por Roscher y usado como el negro de humo.

Indofenol, propuesto por Stockis para sustituir, por su color azul, al Scharlach Roth, cuando el papel sea rosado ó rojo.

Magnesia (Bertillon), para usar en papeles negros ú obscuros.

Como se ve, el número de reveladores pulverulentos usados hasta hace cuatro ó cinco años, era bastante reducido, y la circunstancia de ir acompañados los nombres de las substancias del de las personalidades que han propuesto su empleo, induce á pensar que es interesante el descubrimiento de nuevos reveladores pulverulentos. Efectivamente, después de publicada aquella interesante obra, se han propuesto algunas otras substancias que parecen llenar mejor las condiciones apetecibles de claridad y limpieza de las líneas y detalles de la impresión papilar.

Welchs y Lecha-Marzo, en su *Manuel pratique de Dactyloscopie* (Liege, 1912), hacen muy atinadas consideraciones sobre las ventajas é inconvenientes de los reveladores más generalmente empleados en la práctica corriente é indican otros que consideran de verdadera utilidad. Señalan como tipos de reveladores por sus resultados—según ellos—incomparables, el *Sudan III*, propuesto por Corin y Stockis y el *Scharlach Roth*, propuesto por este último sabio, é indicado también por Locard, recomendando por su parte, como polvos negros ó rojos, para pa-

peles blancos ó claros, el *óxido de manganeso*, el *óxido cúprico*, el *minio*, el *cinabrio* y el *rojo inglés*, y para papeles negros ú obscuros, *cerusa*, *calomelanos* y *sulfato de barita*.

Estos autores rechazan el grafito y el negro de humo porque, á causa de su ligereza, ensucian el soporte y deterioran el dibujo papilar. Nosotros, sin embargo, hemos obtenido con el grafito (el negro de humo no le hemos ensayado) resultados bastante satisfactorios. Mas no vaya á creerse por eso que consideramos al grafito como un revelador excelente, no; hay otros varios que suministran resultados mucho mejores.

Recientemente han encontrado y propuesto, el ilustre sabio Dr. D. Tomás Maestre, profesor de Medicina Legal de la Universidad Central, y su auxiliar el Dr. Lecha-Marzo, un excelente revelador, el *polvo de platino metálico*, que supera indiscutiblemente al Sudan y al Scharlach Roth; mediante su empleo se obtiene, cuando menos, igual delicadeza y perfección en la demostración de las líneas papilares y análoga limpieza de los surcos interpapilares, con la ventaja de presentarse aquéllas en color negro intenso, formando notable contraste con la limpidez y pureza de éstas, como podrían apreciar los que tuviesen la fortuna de observarlas en la sesión pasada de esta Sociedad, en que los ilustrados médicos legistas presentaron su descubrimiento.

Nosotros habíamos tenido ocasión de apreciar las excelencias del platino pulverizado para la revelación de las huellas papilares en las experiencias realizadas por el Dr. Lecha-Marzo en nuestra presencia, en el Laboratorio de Medicina legal de la Facultad de Medicina.

Empero, el platino es una substancia de precio excesivamente elevado para recomendarla preferentemente en investigaciones de la índole de las que nos ocupan, y esta consideración despertó en mi ánimo la idea de buscar otras substancias que, sin desmerecer mucho en cuanto á la claridad y limpieza de las impresiones reveladas, reunieran la circunstancia de ser menos costosas.

A nuestro modo de ver, el *óxido de cobre* propuesto, como dejamos indicado, por Welsch y Lecha-Marzo, reune las condiciones apetecidas para poder ser considerado como un buen revelador. Nosotros le hemos ensayado, como el *rojo escarlata* y el *rojo inglés*, en el Laboratorio de Medicina legal (con el Dr. Lecha-Marzo) y después en el de Investigaciones biológicas, dirigido por el Dr. Cajal, y hemos podido comprobar la exactitud de este aserto. También suministra buenos resultados el óxido de manganeso, igualmente recomendado por los Dres. Welsch y Lecha-Marzo; y en cuanto á la plombagina y el carmín, proporcionan casi siempre resultados aceptables, aunque evidentemente inferiores á los del platino y los óxidos cúprico y mangánico.

Pero hay muchas substancias que pueden emplearse como reveladoras de huellas invisibles, algunas con resultados comparables á los del sudan, el rojo escarlata, los óxidos de cobre y manganeso, y aun quizá con el mismo platino, y otras no menos numerosas que los suministran bastante aceptables, aunque no tan excelentes.

A continuación enumeramos las ensayadas por nosotros, hasta ahora, además de las ya citadas, con la indicación del resultado obtenido, ya que no podamos entrar en otras consideraciones :

I. — Sobre papel blanco ó claro.

1	*Sulfuro de mercurio :*	resultado	excelente	(tono	negro)
2	*Nigrosina:*	»	»	»	»
3	*Chiazinbraun:*	»	»	»	»
4	*Schwarzbraun:*	»	»	»	»
5	*Wollschwarz:*	»	»	»	»
6	*Anilinblau:*	»	bueno	(tono	azul)
7	*Azul alcalino:*	»	excelente	»	»
8	*Azoblau:*	»	algo débil pero fino y limpio	»	»
9	*Alizarina azul:*	»	fino y limpio	»	»
10	*Benzoazurina:*	»	bueno	»	»
11	*Nilblau:*	»	»	»	»
12	*Toluidina azul:*	»	»	»	»
13	*Azul de Lyon:*	»	excelente	»	»
14	*Wasserblau:*	»	»	»	»
15	*Azul Victoria:*	»	regular	»	»
16	*Azul de metileno ordinario:*	»	bueno	»	»
17	*Azul de metileno de Ehrlich:*	»	»	»	»
18	*Dalia (violeta):*	»	excelente	(tono	violeta)
19	*Hofmann violeta:*	»	bueno	»	»
20	*Violeta rojo:*	»	»	»	»
21	*Verde ácido:*	»	excelente	(tono	verde)
22	*Verde malaquita:*	»	»	»	»
23	*Sichtgrün*	»	»	»	»
24	*Janusgrün:*	»	»	»	»
25	*Jodgrün:*	»	»	»	»
26	*Verde de metilo:*	»	»	»	»
27	*Ponceau P. R.:*	»	»	(tono	rojo rosa)
28	*Vaphtalínroth:*	»	»	(tono	rojo obscuro)
29	*Phloxinroth:*	»	bueno y limpio	»	»
30	*Congoroth:*	»	regular, pero fino	»	»
31	*Croceína:*	»	bueno	(tono	rojo rosa)
32	*Rubina:*	»	»	»	»
33	*Safranina:*	»	» y fino	»	»
34	*Purpurina:*	»	excelente	»	»
35	*Orceína:*	»	bueno	»	»
36	*Eosina:*	»	regular	»	»

*

37 *Pardo ácido:*	resultado	excelente	(tono pardo obscuro)
38 *Pardo Bismarck:*	»	»	» »
39 *Fuchsina:*	»	bueno	» » »
40 *Vesuvina:*	»	»	» » »
41 *Hemateína:*	»	regular	» »
42 *Crisoidina:*	»	excelente	(tono naranja)
43 *Orange:*	»	regular	» »
44 *Aurancia:*	»	»	(tono amarillo)

45 *Biondi-Ehrlich-Heidenhain* (3^e color^n): resultado bueno y limpio (tono pardo casi negro).

II. — Sobre fondo negro ú obscuro.

1 *Carbonato de magnesia:*	resultado	bueno
2 » *de litina:*	»	»
3 *Bicarbonato de sosa:*	»	regular
4 *Salicilato de bismuto:*	»	bueno
5 *Creta:*	»	»
6 *Yeso ó escayola:*	»	regular (1)

La precedente relación, con ser incompleta todavía, muestra que, sea cualquiera la tonalidad del papel sobre que se hallen las huellas, siempre podremos contar con uno ó varios reveladores apropiados para hacerlas claramente manifiestas ó darles el tono de color que nos convenga, según el fin que se persiga.

Mas las huellas reveladas por espolvoreamiento son sumamente deleznables; basta el menor roce para hacerlas desaparecer de manera más ó menos completa. Aun en los casos en que la substancia reveladora obra químicamente sobre las materias constitutivas de la huella, es imposible conservarlas, como no sea enteramente aisladas, porque las partículas pulverulentas remanentes emborronan la huella al menor roce, inutilizándola por completo.

Por esta circunstancia, y teniendo en cuenta la utilidad que reportaría para los trabajos de identificación, de cualquier clase que sean, la conservación de las huellas invisibles previamente reveladas, ocurrióseme ensayar algún procedimiento de fijación de dichas impresiones, por cuyo medio pudieran hacerse permanentes y guardarse sin peligro alguno los documentos en que aquéllas se hallen. A ser posible, semejante procedimiento habría de reunir, para ser de aplicación práctica, ciertas condiciones, sin las cuales su uso resultaría restringido y acaso impracticable.

(1) A la precedente lista podrán añadirse, sin duda, otras muchas substancias de buenas condiciones como reveladoras de huellas invisibles, que nosotros no hemos podido ensayar aún por falta de tiempo, especialmente de las utilizables sobre fondos negros ú obscuros.

Habría de ser muy económico, de aplicación fácil y sencilla y no exigir material complicado ni condiciones especiales para su empleo.

Desde luego se comprenderá que no fué nuestro propósito hallar un sólo medio que fijase por igual todas las substancias pulverulentas utilizables como reveladores; la gran diversidad de caracteres físicos y químicos de éstas nos inducía á pensar en la dificultad ó imposibilidad de hallar un fijador universal. Por otra parte, tampoco nos parecía solución satisfactoria del problema la de hallar algún producto que fijase solamente tal ó cual substancia reveladora, porque así podría resultar muy limitado el empleo de los reveladores. Tal sucede, por ejemplo, con el molibdato amónico, que fija, sin ensuciar el soporte, las huellas reveladas con el azul de metileno de Ehrlich y aun con el picrato amónico, si bien éste da al papel un tinte amarillo, aunque conserva á la impresión todos sus caracteres.

Lo preferible sería hallar, por de pronto, un material que fije varios reveladores, á ser posible de colores variados, con objeto de poder servirse de cualquiera de éstos.

El barniz *Sœhnée frères*, para lápiz, llena cumplidamente estas condiciones. Su coste es económico, su empleo sumamente fácil y fija muchas de las substancias pulverulentas por nosotros ensayadas como reveladores. Para que el éxito sea completo, conviene tomar algunas precauciones, como son: 1.ª, evitar que con el barniz se proyecten gotas de vapor de agua que producen manchas en los puntos en que caen, á cuyo efecto creemos sería preferible emplear como aparato proyector del aire un insuflador de goma de los corrientes en los pulverizadores ordinarios, en lugar de servirse de los labios, como nosotros hemos hecho; 2.ª, colocar el papel un poco distante, para que el barniz llegue á él reducido á finísimas gotas; 3.ª, no proyectar sobre el preparado cantidades excesivas de barniz de una vez, siendo preferible en muchos casos hacer la operación en dos ó tres tiempos, separados por intervalos de algunos minutos; 4.ª, antes de fijar conviene limpiar con un pincel los alrededores de la huella, para eliminar las partículas de revelador que queden adheridas en la vecindad, para evitar, en parte al menos, las manchas que suelen producirse.

También fija muchos reveladores el barniz para acuarelas, de los mismos fabricantes; pero nos ha parecido inferior al antes citado, aunque le hemos ensayado mucho menos.

A continuación damos la lista de las substancias reveladoras que hemos logrado fijar por los medios indicados:

a) REVELADORES DE HUELLAS INVISIBLES QUE PUEDEN FIJARSE CON BARNIZ SŒHNÉE FRERES PARA LÁPIZ.

1.° *Resultan negros ó pardos muy obscuros.*

Sulfuro de mercurio	Schwarzbraun.
Oxido mangánico	Benzoazurina.
Nigrosina	Fuchsina.
Plombagina	Alizarina azul.

2.° *Pardos algo claros.*

Pardo ácido (Säurebraun)	Pardo Bismark.
Vesuvina	Chiazinbraun.

3.° *Rojos, algunos muy obscuros.*

Ponceau P. R.	Rojo escarlata.
Sudan III	Orceína pura.
Croceína	Purpurina.
Safranina	»

4.° *Anaranjados y amarillos.*

Crisoidina	Auracia.
Orange	»

5.° *Verdes.*

Verde ácido (Säuregrün)	Janusgrün.
Sichtgrün	Jodgrün.

6.° *Azules, algunos casi negros.*

Wasserblau	Azul de metileno ordinario.
Toluidina azul	» » de Ehrlich.
Wollschwarz	Methylgrün (verde de metilo).
Azul alcalino	»

7.° *¿Violados ó púrpura?*

Violeta rojo	Vaphtalinroth.

b) REVELADORES DE HUELLAS INVISIBLES FIJADOS CON BARNIZ SŒHNÉE FRERES PARA ACUARELA.

Crisoidina	Jodgrün.
Säuregrün (verde ácido)	Methylgrün (verde de metilo).
Sichtgrün	»

Con el procedimiento de fijación que acabamos de indicar, se obtienen resultados altamente satisfactorios; generalmente las huellas conservan, después de reveladas y fijadas, la misma claridad en los detalles que

muchas de las obtenidas directamente; otras veces el agente revelador vira, bajo la acción del fijador, hacia los tonos obscuros, adquiriendo mayor intensidad; algunas, en fin, ligeramente perceptibles mediante el revelado, adquieren una claridad é intensidad inesperada al recibir el fijador, como sucede con la crisoidina y otras varias.

Abrigamos la esperanza de que, la posibilidad de fijar con facilidad las huellas invisibles previamente reveladas, simplificará y facilitará mucho el empleo de la Dactiloscopia en la vida social. De ese modo, la identificación personal en operaciones de crédito, reconocimiento de documentos y otras análogas, resultará expedita y fácil. No será necesario ensuciar ni embadurnar los dedos con tintas, que exigirían lavado ulterior más ó menos esmerado; bastaría con que el interesado apoye su dedo desnudo sobre un papel, estampando su huella, que el funcionario encargado revelará en el acto y fijará, si es preciso, con el barniz, que seca rápidamente, y queda la operación terminada.

Como ya he revasado sobradamente el tiempo de que disponía, molestando quizá demasiado vuestra atención, doy por terminado el asunto, dejando sin exponer multitud de consideraciones y detalles interesantes.

DISCUSIÓN

El Sr. **Lecha-Marzo:** Consideramos muy interesantes las numerosas observaciones realizadas por el Dr. Sánchez. Como hemos dicho en una comunicación presentada en esta Sociedad, en colaboración con mi maestro el Dr. Maestre, muchos reactivos no es necesario conservarlos; multitud de substancias revelan las huellas digitales experimentales, pero no todas las huellas que se encuentran en la práctica. Por consiguiente, creemos necesaria una selección. El polvo de platino, que nosotros proponíamos en nuestro trabajo anterior, resulta menos costoso que lo que supone nuestro colega, pues la cantidad que se necesita para revelar una huella es escasísima; otro reactivo que hemos propuesto, el negro de uranio, es mucho menos costoso que el negro de platino.

Cuando necesitamos fijar una huella lo hacemos con la goma aluminosa (Stockis), y siempre obtenemos grandes ampliaciones para comparar los puntos característicos y demostrar que la huella revelada pertenece á un sujeto sospechoso.

El Sr. **Sánchez:** Evidentemente, la selección á que tan acertadamente alude el Sr. Lecha-Marzo, será una de las varias consecuencias que se deduzcan inmediatamente de las investigaciones sobre el conocimiento de las substancias reveladoras, pues sólo cuando se conozcan muchas ó varias de éstas, se podrán elegir las que convenga aplicar en cada caso particular, ya se trate de identificación de delincuentes, ó ya de otras de las muchas aplicaciones que la revelación y fijación de huellas ha de tener en la vida social.

Por lo demás, no considera incompatible el empleo de los procedimientos de fijación por él ensayados con el de Stockis, que desconocía, ni con cualesquiera otros conocidos ó que en lo sucesivo se descubran, los cuales pueden complementarse mientras la práctica decida sobre él ó los que deben merecer preferencia.

Nueva técnica para la espectroscopia y cristalografía sanguínea

POR LOS DOCTORES

MAESTRE Y LECHA-MARZO

Sin duda alguna, la causa principal de que los métodos de hemodiagnóstico médico-legal no den resultados evidentes en todos los casos de la práctica, es la dispersión del material sospechoso. Para evitarlo, todos los investigadores trataron de encontrar reactivos que, como el amoníaco, otros álcalis, la piridina, etc., permiten extraer en muy poca cantidad de reactivo gran cantidad de material sanguíneo. Todos reconocemos que, á pesar de estas prácticas, en muchos casos el material sospechoso no se encuentra lo suficientemente concentrado para permitir las pruebas del hemodiagnóstico.

Así, por esto, algunos autores recomiendan llevar al porta-objetos los hilos ó partículas sospechosas, para someterlos directamente á las pruebas cristalográficas, evitando de esta manera la disolución y dispersión. Otros autores se han preocupado en aumentar la sensibilidad de la demostración espectroscópica de la sangre. Citron (1910) ha recomendado un dispositivo que se adapta á todos los espectroscopios de mano: emplea un vasito de vidrio, de 4 milímetros de anchura, 36 de longitud y 20 de alto, y lo desliza delante de la abertura del colimador del prisma, en una pequeña hendidura entre dos railes; de esta manera, la pequeña cantidad de líquido se puede examinar á gran espesor. Corin (1911) ha propuesto, para obtener el espectro por el artificio del gran espesor, el empleo de un tubo capilar. Y así, nos sería fácil continuar la demostración de nuestra tesis.

Creemos que estas técnicas pueden simplificarse. Nosotros procedemos de una manera un poco distinta y mucho más práctica. Utilizamos como material el papel gelatinado de los fotógrafos, como los papeles al citrato y también los papeles á la celoidina, que privamos de las sales de plata por un baño en hiposulfito sódico. Empleamos también las películas fotográficas sometidas al mismo tratamiento, y hojas de celuloide que nosotros mismos preparamos extendiendo una capa delgada de gelatina.

La técnica sirve para todas las manchas que asientan sobre objetos lisos, como armas, espejos, porcelana, madera, mármol, etc. Humedecemos el papel reactivo, la película fotográfica (casi siempre de las dimensiones de un porta-objetos ordinario), sumergiéndola varios minutos en

agua, y después de eliminado el exceso de líquido por aplicación del papel secante, aplicamos nuestro porta-objetos sobre la superficie plana, cóncava ó convexa que contiene la huella, aumentamos su adherencia por presión, y á los pocos minutos separamos ya la película, que ha traspasado por completo la huella. Si alguna vez la operación fracasa, puede repetirse con el mismo trozo de película varias veces. Una mancha de sangre puede impresionarnos varios porta-objetos. Algunas veces convendrá humedecer la mancha con un fino pincel.

Nuestro amigo el Dr. Eug. Stockis, ha estudiado el traspaso de las impresiones y manchas con ayuda de los papeles y películas fotográficas. En las dos monografías (1) publicadas por nuestro colega, estudia particularmente el traspaso de las huellas digitales, y consigna que los mismos procedimientos sirven para reproducir el contorno y traspasar gotas de sangre y manchas de todas clases.

Esto es una mínima aplicación. Nosotros proponemos un método general, utilizando como base el traspaso en la película fotográfica. Una vez traspasada la mancha nosotros podemos fotografiarla, reproduciéndola con un papel fotográfico sensible y utilizando la película como placa fotográfica.

Después llevamos á la platina del microscopio la película que contiene la huella traspasada, y el examen demuestra, especialmente en los bordes de la mancha, glóbulos rojos intactos. Sustituímos el ocular ordinario por el ocular micro-espectroscópico, y en algunos casos, con manchas de alguna antigüedad, hemos podido observar las bandas de la oxihemoglobina. Hasta ahora dos pruebas han sido intentadas, y no hemos sometido la mancha á ningún tratamiento.

Si en los glóbulos rojos se presentan masas difíciles de examinar, podemos ensayar el reactivo de Virchow (solución de potasa al 32 por 100), que aisla muy bien los glóbulos rojos sin deformarlos; sustituyendo nuevamente el ocular por el micro-espectroscopio, observamos el espectro característico del hemocromógeno. En vez de este método, ponemos en práctica otras veces el procedimiento de diascopia de manchas de sangre, propuesto recientemente por De Dominicis: fragmentación del material sospechoso en una gota de esencia de orégano y acción inmediata de una gota de solución de eosina en paraldehido; montaje en euparal.

Sobre las huellas traspasadas al papel y película fotográfica, obtenemos también las reacciones de oxidación, como la reacción de Van Deen y variantes por la tintura de guayaco, la reacción de Schaer-Rossel (á la aloína), la de Meyer-Kastle (á la fenolftaleína), la de Adler (á la bencidi-

(1) *Stockis:* Nouvelle méthode par transfert des empreintes et des taches. *Revue de Droit Penal et de Criminologie,* Noviembre 1910. *Archiv Intern. de Med. leg.*, 1911.

na), la de Ganassini (á la eosina), etc. (1). Obtenemos también la prueba de Donogany por la piridina y el sulfuro de amonio. De esta manera, algunos modos de operar que habían sido propuestos (Ellermann, 1911) para aumentar la sensibilidad de las pruebas, no son ya necesarios.

Cuando para el traspaso de las huellas hemos utilizado el papel gelatinado, para la observación de los glóbulos rojos recomendamos el microscopio que, para el examen directo de las manchas de sangre en las armas, ha construído la casa Nachet (método de Florence, epimicroscopia), ó el opaciluminador de Leitz ó el ocular del microscopio del modelo Remtjoe, construído por Reichert.

Sobre las manchas de sangre traspasadas en el celuloide gelatinado hemos ensayado también los métodos de cristalografía sanguínea. Los resultados que obtuvimos con el yodo y los reductores piridina y sulfuro de amonio, fueron verdaderamente notables. Los cristales de hemocromógeno y de yodo-hematina, ó de yodo-hemocromógeno, como quiere llamarlos Leers, aparecen rápidamente y numerosísimos. La sangre adquiere un bello color rojo sanguíneo transparente. El método de la piridina y del ácido pirogálico, para la obtención de cristales fijos, permite también resultados brillantes.

Estos preparados permiten la observación del espectro del hemocromógeno, sobre cuya importancia se insiste ya tanto (Dominicis, Lochte, Kalmus, Ziemke, Dilling, Lattes y otros muchos). Presenta en la zona ultravioleta un espectrograma característico, que permite reconocer la sangre á diluciones muy grandes.

Las otras pruebas espectrales son también posibles.

Además, el traspaso de la sangre al papel gelatinado ó al celuloide, no impide la ejecución de las pruebas biológicas de diagnóstico de especie.

En conclusión: la ejecución de las distintas pruebas sanguíneas sobre la película fotográfica que contiene el material sospechoso traspasado, permite resultados muy netos, no alterando el material en algunas de ellas y economizando siempre gran cantidad de este último, que reservamos para las pruebas biológicas.

Creemos que estos ensayos servirán para aumentar la confianza que tenemos en los procedimientos de diagnóstico médico-legal de las manchas de sangre.

(1) Sobre esta nueva reacción véase la nota publicada con el interno señor Cl. Aznar en los *Archives Internationales de Médecine légale*, 1913.

SESIÓN DEL 20 DE DICIEMBRE DE 1913

Método original para determinar la cantidad total de sangre del cuerpo humano (1)

POR

L. CARDENAL

La base de nuestro método es la dilución de la sangre por medio del agua. Pero como la inyección de grandes cantidades de líquido en el tejido subcutáneo exige grandes cautelas y es sumamente dolorosa en ocasiones para el individuo sometido á la experiencia, nosotros hacemos sencillamente beber 200 cent. cúb. de agua clara de una vez, y examinamos el tanto por ciento de hemoglobina de la sangre por medio del aparato de Fleischl-Miescher ó del hemoglobinómetro de Sahli durante intervalos regulares antes y después de la absorción y eliminación del agua, que, según los experimentos de v. Mehring, se verifica en menos de tres cuartos de hora; por medio de una sencilla ecuación, deducimos la cantidad de sangre del cuerpo.

Sea, por ejemplo, el individuo J. R., que se encuentra en perfecto estado de salud y, en el cual, por lo tanto, hemos de encontrar cantidades normales de sangre. Su peso es 70 kilos. A las siete y cuarenta de la mañana empezamos á medir la cantidad de hemoglobina de su sangre y obtenemos un valor igual á 108'1; á las ocho, 107; á las ocho y cuarto, 107'7; á las ocho y veinticinco, 108'2; término medio de estas cuatro cantidades, 107'75. A las ocho y cuarto orina el enfermo cuanto puede, y bebe entonces 200 cent. cúb. de agua clara. A los veinte minutos, ó sea á las ocho y treinta y cinco, encontramos un valor hemoglobínico de 103'4 (el agua ha sido ya absorbida); á las ocho y cuarenta y cinco, 102'4; á las ocho y cincuenta y cinco, 102'7; á las nueve y cuarto, 107 (el agua ha sido ya eliminada de la sangre); término medio de estas cantidades, desde las ocho y treinta y cinco hasta las nueve y quince, 103'9. A las

(1) El trabajo completo se publica en el tomo XI, núm. 1, pág. 1, de la *Revista Clínica de Madrid*, 1914.

ocho y cuarenta y cinco, orina el individuo sometido á la prueba 98 centímetros cúbicos de orina, que hay que deducir de los 200 de agua que había bebido. Planteamos, pues, la ecuación siguiente:

$$x \, . \, 107'75 = \left(x + \frac{200 + 102}{2}\right) . \, 103'9$$

de donde

$$x = \frac{15688'9}{3'85} = 4070.$$

Contiene, pues, el cuerpo de dicho individuo, 4070 cent. cúb. de sangre, que equivalen, como es obvio, á una diecisieteava parte del peso de dicho cuerpo.

En nuestros primeros ensayos tropezamos con algunas dificultades, probablemente por no haber tenido suficientemente en cuenta algunos factores que pueden modificar momentáneamente la ecuación.

El primero de dichos factores, el que más trabajo nos costó eliminar, fué la pérdida gradual de agua de la sangre á poco de haber sufrido la hidremia momentánea que en ella producimos artificialmente por medio de la ingestión del agua. En lugar de practicar las mediciones de la hemoglobina cada diez minutos próximamente, tardábamos más ó menos, y, en el primer caso sobre todo, las cifras que obteníamos volvían á ser tan rápidamente las normales, que con ellas no podíamos deducir consecuencias exactas. Después de múltiples ensayos podemos recomendar, para la mayoría de los casos, el plan que hemos expuesto en el ejemplo; así se obtienen siempre resultados comparables.

El segundo factor de importancia que hay que tener en cuenta es la eliminación real de agua durante el tiempo que dura la prueba. Mientras les permitíamos á los individuos sometidos á la prueba moverse libremente, obtuvimos resultados muy desiguales, pero desde que exigimos que todo el tiempo necesario para nuestra exploración se esté el enfermo en la cama, no excesivamente abrigado, y procure hacer pocos movimientos, los resultados fueron más uniformes. Por último, uno de los factores más importantes para el éxito del método es la eliminación renal. Es preciso que en el momento de empezar la prueba, esto es, al beber el paciente el agua, su vejiga esté absolutamente vacía y no es menos imprescindible que un poco antes de terminar la experiencia la vuelva á vaciar para deducir la cantidad que expulse de la de líquido ingerido y obtener el promedio de agua circulante.

Las cifras obtenidas en individuos sanos y de un peso medio normal indican que el peso de la sangre equivale próximamente á $^1/_{17}$ del peso del cuerpo, lo mismo en el hombre que en la mujer.

En los obesos las cifras que nos ha dado el cálculo son muy inferiores á las que, dado el peso del individuo, debiéramos encontrar. En efecto, á medida que aumenta el peso del cuerpo en esa clase de individuos, téngase presente que se trata de verdaderos obesos, la proporción entre dicho peso y el volumen de su sangre va disminuyendo, llegando á constituir la sangre en el individuo que pesa 140 kilogramos nada más que la veinticincoava parte de su peso. En la mujer esta desproporción es igualmente sensible, como puede verse claramente en la tabla. En realidad, estas cifras deben ser las verdaderas, pues es notoriamente sabido que la grasa posee una irrigación sanguínea muy escasa, y por lo tanto, en los casos en que el gran peso del individuo se debe á la existencia de grandes masas de tejido adiposo, es lógico que encontremos una cantidad de sangre menor que la correspondiente al peso absoluto del cuerpo. Que en realidad ocurren así las cosas y no hay que atribuir á defectos del método estas cifras tan bajas, lo comprueba el siguiente experimento: El individuo que pesaba 140 kilogramos, se hallaba sumamente molesto á causa del considerable volumen de su organismo, y solicitó ser sometido á un tratamiento adecuado para reducirle el peso. Trasladóse á una Clínica de Alemania, y, mediante un régimen dietético muy riguroso y la administración de pastillas de tiroidina, fué posible, en el transcurso de poco más de siete meses, reducir su peso en 45 kilos. Practicado en este momento el examen de la cantidad de su sangre, nos dió el siguiente resultado: término medio de la hemoglobina antes de beber el agua, 96'6; término medio después de absorbida el agua, 94; cantidad de orina expulsada durante la prueba, 90 cent. cúb. Tendremos, pues:

$$x \,.\, 96'6 = \left(x + \frac{200 + 110}{2}\right) .\, 94$$

de donde

$$x = \frac{14.570}{2.6} = 5.570$$

esta última cifra, ligeramente inferior tan sólo á la que ofreció el individuo cuando pesaba 140 kilos, demuestra dos hechos de gran importancia, á saber: en primer lugar, que el volumen de la sangre con relación al peso del cuerpo se ha normalizado, pues 5.570 cent. cúb. representan casi exactamente $^{1}/_{17}$ del peso del cuerpo, y en segundo lugar, nos demuestra que la reducción de peso se ha verificado exclusivamente á expensas de tejidos inútiles por decirlo así (la grasa), pues la reducción total de la sangre es insignificante comparada con la que ha sufrido el peso del cuerpo. Si la cantidad de sangre hubiera disminuído proporcionalmente al peso del cuerpo, la masa de este líquido debiera haberse reducido 180

centímetros cúbicos si tomamos como base la proporción primitiva (ó sea peso del cuerpo á volumen de la sangre como 1 á 25), ó 260 cent. cúb. si, lo que parece más lógico, tomamos como base la proporción normal en los individuos sanos y bien constituídos (1 á 17).

Este método pone en nuestras manos, como lo demuestra el ejemplo que acabamos de citar, un recurso precioso para determinar el momento en que una cura de enflaquecimiento ha llegado al límite permitido, esto es, nos indica de un modo objetivo y preciso el momento en que se debe interrumpir dicho tratamiento. El siguiente caso de nuestra práctica lo pone de manifiesto cumplidamente.

Una enferma, A. S., natural de Orense, de veintiocho años de edad, es sometida á instancias suyas á una cura de enflaquecimiento por medio de una dieta apropiada y de la administración de pastillas de tiroidina en muy pequeña cantidad; la enferma, después de habernos consultado, regresó á su pueblo, en donde, bajo la vigilancia de su médico, se sometió con el mayor rigor al tratamiento indicado. En el momento en que la vimos por primera vez pesaba 108 kilos, y la masa total de su sangre, medida á nuestro método, ascendía á 4.820 cent. cúb., esto es, ofrecía la proporción de 1 á 22 á 1 á 23, próximamente, que es la proporción que más á menudo encontramos en los casos de obesidad. A los cinco meses y medio presentóse de nuevo en nuestra consulta y la sometimos otra vez á la prueba del agua. El resultado obtenido fué notable y explicaba perfectamente la profunda debilidad que acusaba la enferma. La disminución de peso en tan corto período de tiempo fué verdaderamente enorme, pues pesaba tan sólo 72 kilos; era, por lo tanto, de temer que hubiera exagerado el tratamiento y hubiera rebasado el límite en que debía interrumpirlo. En efecto, el cálculo nos dió las siguientes cifras: término medio de hemoglobina antes de beber el agua, 66'5; después de beber el agua, 63'5; cantidad de orina segregada durante la prueba, 44 centímetros cúbicos. Tendremos, pues:

$$x \,.\, 66'5 = \left(x + \frac{200 + 156}{2}\right) .\, 6'35$$

de donde

$$x = \frac{113030}{3} = 3760$$

Como puede verse, la masa total de la sangre de esta enferma ha disminuído de un modo excesivo y además es insuficiente para el peso de su cuerpo. En efecto, para que la proporción entre peso del cuerpo y masa de sangre fuera lo normal (esto es, 1 á 17), esta enferma debería contener en su organismo, por lo menos, 4.230 cent. cúb. de sangre, en lugar de

los 3.760 que presenta y que constituyen tan sólo la décimanovena parte de dicho peso. Además, en cinco meses la cantidad total absoluta de sangre ha disminuído en más de 1.000 cent. cúb., cifra excesiva por todos conceptos y que representa una enorme sangría. Por más que prescribimos á la enferma un tratamiento reconstituyente, hemos sabido que á poco de regresar á su pueblo sucumbió rápidamente, sin que nos haya sido posible averiguar el mecanismo exacto de su muerte.

Pudiera objetarse á nuestro método que es imposible que con tan ligeras variaciones de la hemoglobina y mediante la simple ingestión de una cantidad tan exigua de agua, se puedan obtener datos exactos. Para comprobarlo hemos practicado la prueba en individuos en los que se extraía una cantidad determinada de sangre en casos de sangrías terapéuticas, y hemos podido comprobar repetidas veces que el error cometido, atribuíble, más que al principio en que se funda el método, á errores subjetivos en la determinación de la hemoglobina, no es casi nunca superior á 50 gramos. En seis casos, en enfermos en los cuales, por un motivo ó por otro, ha sido preciso practicarles, con fines terapéuticos, una sangría más ó menos considerable, hemos ensayado nuestro método y hemos obtenido los siguientes resultados:

TABLA IV (1)

PESO DEL CUERPO — *Kilogramos.*	CANTIDAD TOTAL DE SANGRE		CANTIDAD DE SANGRE EXTRAÍDA — *Centímetros cúbicos.*
	Antes de la sangría. — *Centímetros cúbicos.*	Después de la sangría. — *Centímetros cúbicos*	
71	3'900	3'630	300
66	3'840	3'560	300
60	3'390	3'190	250
54	3'100	2'940	200
54	3'110	2'940	200
53	3'020	2'860	200

Resultados más demostrativos es casi imposible obtenerlos, tanto más, cuanto que estas pruebas tienen el valor de verdaderos experimentos fisiológicos.

(1) Las tablas I, II y III se han reproducido en el trabajo completo, publicado en la *Revista Clínica de Madrid*.

CONCLUSIONES

1.ª La sangre es un elemento del organismo de enorme importancia, no sólo en cuanto á su composición química y morfológica, sino también por su volumen.

2.ª Son muy numerosos los accidentes que en Cirugía pueden atribuirse á una falta (aguda ó crónica) de cantidad de sangre.

3.ª Uno de los factores que determinan la resistencia individual, es la cantidad de sangre del cuerpo.

4.ª Por medio de la determinación de la cantidad total de sangre del cuerpo humano se podría calcular de un modo objetivo la resistencia individual.

5.ª Ni en los Tratados de Fisiología ni en los de exploración clínica se encuentra ningún procedimiento aplicable á la práctica para determinar la masa total de la sangre del cuerpo humano.

6.ª Para determinar la cantidad total de sangre del cuerpo humano, es necesario apelar á procedimientos indirectos.

7.ª El unico método *exacto* aplicable al hombre era, hasta ahora, el del óxido de carbono de Grehant-Quinquaud-Huxley, pero sólo es practicable en grandes laboratorios muy bien montados, y no deja de presentar algunos peligros.

8.ª *Nuestro método da resultados tan exactos como el de* Grehant-Quinquaud-Huxley, *y además es aplicable á la clínica con muy pocos recursos, y está por completo exento de peligros.*

9.ª Nuestro método se funda en la dilución de la sangre por medio de la ingestión de agua, dilución ésta que se mide por procedimientos colorimétricos (determinación de la hemoglobina con el hemoglobinómetro de Fleischl-Miescher ó con el hemómetro de Sahli).

10. Los resultados obtenidos por nuestro método nos permiten corregir los cálculos antiguos y evaluar la cantidad total de sangre del cuerpo humano en $^1/_{17}$ del peso de dicho cuerpo.

11. En los pletóricos verdaderos, cuya existencia se confirma por nuestro método, la cantidad de sangre está normalmente aumentada.

12. En los obesos, la cantidad de sangre es mucho menor de lo que corresponde al peso absoluto del cuerpo. La cantidad de sangre que se encuentra en los obesos es tan sólo ligeramente mayor que la correspondiente al peso de dicho cuerpo, menos el exceso de grasa.

13. Por nuestro método es posible determinar el momento preciso en que debe interrumpirse el tratamiento contra la obesidad (restableci-

miento de la proporción normal de 1 á 17 entre peso del cuerpo y volumen de la sangre).

14. En las sangrías terapéuticas, que equivalen á verdaderos experimentos fisiológicos, hemos comprobado que el error máximo que se comete con nuestro método al calcular la cantidad total de sangre del cuerpo humano no es superior á 50 gramos.

15. En los enfermos con ciertas afecciones del estómago (estenosis pilórica, dilatación gástrica, dispepsias atónicas), nuestro método clásico da resultados inexactos, por no absorberse el agua con suficiente rapidez después de su ingestión. En esos casos, se debe apelar á nuestro método modificado por la inyección subcutánea del agua en lugar de la ingestión gástrica de la misma. Los resultados que se obtienen son, en estas condiciones, igualmente exactos.

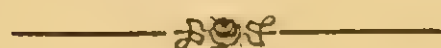
16. En los enfermos del riñón, con edemas, nuestro método clásico y el método modificado fracasan por completo, y hemos de renunciar, por lo tanto, á determinar en ellos la cantidad total de la sangre.

17. En los cardíacos, durante los períodos de compensación, el método da resultados exactos.

18. Nuestro método, aplicado á la Cirugía, nos permite determinar de antemano la cantidad de sangre de los pacientes y someterlos previamente á un tratamienso reconstituyente, sin pérdida de tiempo, porque el restablecimiento de la proporción normal de la sangre y peso del cuerpo nos indica el momento preciso en que se puede operar.

19. La proporción normal entre el peso del cuerpo y el volumen de la sangre es de 1 á 17. Cuando esta proporción es de 1 á 19 ó 20, la operación resulta excesivamente peligrosa, y es más conveniente esperar á que la masa de sangre del individuo aumente.

20. Nuestro método es hoy día el único aplicable á la práctica con resultados exactos.



Leishmaniosis espontánea del perro en la comarca de Tortosa

POR

G. PITTALUGA

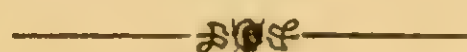
La coincidencia del Kala-azar infantil y de la Leishmaniosis espontánea del perro en el litoral mediterráneo (Grecia, Italia, Sicilia, Túnez, Argelia) es objeto al propio tiempo de porfiadas pesquisas y de controversias. A partir del momento en que se descubrieron los primeros casos de Kala-azar infantil en la costa de Levante de España (Tortosa, Agosto-Octubre de 1912), formamos el propósito, con el Dr. D. Manuel Vilá, á quien se debe la mayor parte del material aportado al esclarecimiento de estas cuestiones en nuestro país, de buscar con ahinco la existencia de perros enfermos en las localidades, y precisamente en las cercanías de las casas en que se hubiesen observado casos de Kala-azar infantil. Estas pesquisas, rodeadas de muchas dificultades prácticas, fueron intentadas, luego, también por Fidel Fernández Martínez, en la provincia de Granada, y por F. Camacho, en Almuñecar, cuando se averiguó la existencia de la infección por Leishmania en aquellas localidades.

Repetidas veces el Dr. Vilá, de Tortosa, el Dr. Torrademé, del Perelló (Tortosa), y los Sres. Fernández Martínez y Camacho, tuvieron motivos para sospechar de haber dado con perros infectados en sus respectivos distritos. Sin embargo, en ninguno de estos casos, hasta la fecha, había sido posible afianzar la sospecha con el examen parasitológico, ya por no haberse podido llevar á cabo la investigación, ya por haber dado resultado negativo esta última (punción hepática, Dr. Vilá). El Dr. Vilá nos remitió hace ya tiempo un perro sospechoso, en el cual no hubo manera de poner en claro la infección. Creemos que desde luego no se trataba de un perro leishmaniósico y, en efecto, el Sr. D. Dalmacio García diagnosticó luego un moquillo.

Finalmente, los insistentes y meritorios trabajos del Dr. Vilá han sido coronados por el éxito, y nosotros podemos anunciar á la Sociedad de Biología el importante hallazgo del primer caso de Leishmaniosis espontánea del perro demostrado en España, y debido al Dr. Vilá. Hoy mismo hemos recibido en el Instituto Nacional de Higiene de Alfonso XIII el perro diagnosticado, por punción hepática, por el Dr. Vilá. Trátase de un perro de caza de cuatro años de edad, que ha vivido en la partida de Aldea (Tortosa, delta del Ebro) y de allí procede, habiéndose notado que

se hallaba enfermo desde hace cuatro meses aproximadamente. Su aspecto es macilento, demacrado, con grandes zonas de alopecia. Al examen de preparaciones obtenidas por punción del parénquima hepático y convenientemente teñidas (Giemsa), se aprecian numerosas Leishmanias, en su mayor parte endocelulares; y al propio tiempo microfilarias de la especie *Filaria immitis*.

Madrid 24 Diciembre 1913.



Investigaciones sobre el tejido muscular liso

POR

P. DEL RÍO HORTEGA



El magnífico método propuesto por el maestro Cajal para la demostración del aparato endocelular de Golgi-Holmgren, aplicado por nosotros al estudio de la fibra muscular lisa en el útero, estómago, intestino, vejiga urinaria, etc., de animales jóvenes (perro, conejo, gato, cobaya), nos ha permitido observar los caracteres de dicho aparato y sorprender algo nuevo referente al núcleo de las fibro-células. El mismo procedimiento del nitrato ó acetato de uranio y la plata, revela en nuestras preparaciones la estructura fibrilar del protoplasma y pone en evidencia el modo de unión y conexiones de las células de Kölliker.

Continuando nuestras observaciones por los métodos de Achúcarro y Bielschowsky, hemos obtenido admirables impregnaciones del conectivo interfibrilar. Hemos empleado también el método de Weigert para las fibras elásticas y el de Heidenhain á la hematoxilina ferruginosa, sobre el cual se basa en general la descripción que actualmente se hace del tejido muscular de fibra lisa.

Nos hemos interesado de manera especial sobre los puntos siguientes: filamento espiroide del núcleo, aparato endocelular de Golgi, estructura fibrilar del protoplasma, unión de las fibro-células y tejido conjuntivo interfibrilar.

Daremos una noticia sucinta de nuestras observaciones.

Filamento nuclear. — En el núcleo de las fibro-células tratadas por el licor formol-uránico y la plata, puede notarse la existencia de ciertas trabéculas de grosor notable, teñidas en un tono gris obscuro, que se destacan vigorosamente del fondo nuclear no coloreado. La disposición

de tal cordoncito no es constante, aunque sus variaciones constituyen modalidades de un sólo tipo general.

En la mayor parte de los núcleos, y sobre todo en los que en lugar de la forma típica de bastoncito poseen otra más ovoidea, el hilo citado forma una especie de bridas transversales, ligeramente incurvadas y tendidas entre dos puntos opuestos de la membrana. Un examen detenido demuestra que cada una de ellas corresponde á una vuelta de un filamento continuo rodeado al núcleo, el cual, partiendo de un polo, describe tres, cuatro, seis ó más vueltas, tanto más próximas cuanto más numerosas, y termina finalmente en el polo opuesto.

Algunos núcleos exhiben un borde festonado que hace creer que el filamento que los envuelve los ata sólidamente y los constriñe como una ligadura.

En otros núcleos, el aspecto espiral no aparece tan típico y pudiera decirse más bien que existen varios anillos independientes y relativamente distantes. Finalmente, en un tercer tipo no se observa espira ni anillos, sino trabéculas transversales ú oblícuas al eje nuclear, las cuales son tanto más manifiestas cuanto más alargado es el núcleo. En general, la dirección seguida por las vueltas de espira son transversales al eje nuclear, pero hay núcleos donde se orientan oblicua ó paralelamente al eje.

¿Qué representa este cordoncito? De primera impresión se diría que se trata simplemente de surcos ó arrugas de la membrana nuclear, determinados por la onda de contracción de la fibro-célula, sobre la cual se ha hecho actuar el fijador imediatamente después de haberlo separado del animal vivo ó recientemente sacrificado. La contracción de la fibra iniciada en una extremidad se propagaría por pequeñas sacudidas durante la agonía celular, y cada una de estas pequeñas ondas podría haber engendrado un surco sobre la cubierta nuclear.

Contra esta hipótesis está el hecho de que existen núcleos en los cuales la dirección que siguen los filamentos argentófilos no es transversal al eje de la célula, sino más ó menos oblicuo ó longitudinal, lo que no tendría lugar si esto dependiese del movimiento de contracción.

Descartada esta primera hipótesis y admitiéndose que se trata de un filamento real y no de una apariencia, surge un problema nuevo. ¿Es endo ó perinuclear? Confesemos que es imposible el responder de una manera satisfactoria. Posee una unión tal con la membrana, que es imposible el discernir si yace por fuera ó por dentro de ella, ó si es un hilo tendido periféricamente envolviendo al núcleo en sus curvas, atándole como para impedir su deformación cuando la fibra se contrae, ó finalmente, si es un cordoncito intranuclear, al cual podría atribuirse la reti-

culación transversal que revelan las coloraciones ordinarias (hematoxilina, carmín, anilinas), observada desde antiguo y estimada como de naturaleza cromática. Estos núcleos de contorno festonado que hemos descrito, hacen más bien pensar en algo externo, y sobre todo, si nos fijamos en que á la deformación externa no corresponde un estado de tensión en el filamento que lo produce, puesto que éste se presenta curvado. Pero en ningún caso hemos llegado á ver este hilo separado del núcleo, lo que probaría sin ninguna duda su situación estranuclear. Además, se ven más á menudo núcleos con escasos anillos ó solamente con bridas transversales, lo que en definitiva nos hace considerar dicho filamento como intranuclear.

Finalmente, nos resta conjeturar la naturaleza de este aparatito. Desde luego se nota que jamás ofrece relación con el aparato de Golgi.

La cromatina, ya por los métodos corrientes, ya por los de la plata, se presenta como formando algunos delgados filamentos ó granos, y en ningún caso adopta la disposición de filamento continuo. El que describimos no se tiñe por los reactivos de la cromatina; no se trata, pues, de un filamento cromático. En los cortes mismos que después de ser teñidos por la plata exhibían claramente estos hilos nucleares, una vez decolorados por el alumbre de hierro y de amoníaco, y vueltos á colorear por la hemotoxilina, tales hilos no aparecen. Es preciso pensar en algo diferente de la cromatina y acaso nuevas observaciones histoquímicas permitan aclarar su naturaleza y hacer entrever algo sobre su función, que puede ser pasiva, de sostén solamente, ó activa, basada en su elasticidad, lo que es más probable.

Aparato de Golgi. — Este sistema trabecular es extraordinariamente sencillo en las fuso-células de Kölliker. Le hemos estudiado en los elementos musculares de la vejiga, estómago y útero de animales de ocho á diez días. En el perro se le demuestra fácilmente en el estómago é intestino, procurando previamente eliminar, mediante lavado en el líquido formol uránico, todos los detritus de la alimentación acumulados en los repliegues y las vellosidades. En las fibras lisas el aparato endocelular está situado en una de las extremidades del núcleo, rara vez en las dos, y más raramente todavía en uno de los lados. Forma solamente dos ó tres cordoncitos cortos y gruesos, ligeramente varicosos, que se unen en una prolongación que avanza siguiendo el eje de la célula. Muchas de éstas contienen solamente un bastoncito de base yuxtanuclear ensanchada, y en otras ocasiones muchas granulaciones irregulares.

En las fibras contráctiles, seccionadas transversalmente, se ve uno ó muchos cordones ó granos y algunas prolongaciones que envuelven al núcleo.

Miofibrillas. — Heidenhain, Benda, Marcean, Lenhossék, Engelmann y otros, han descripto las fibrillas que existen en el protoplasma de las fibro-células. El primero de los autores citados discernió con su método de la hematoxilina ferruginosa, dos especies de miofibrillas: superficiales gruesas (*Grenzfibrillen*) y profundas finas (*Binnenfibrillen*). Las primeras pueden ser coloreadas y las últimas son incolorables.

Nada nuevo podemos aportar sobre esto, limitándonos á hacer observar que por el método de Cajal (uranio) se obtiene la coloración intensa de estas fibrillas, aunque de aspecto granuloso, como si estuviesen constituídas por nódulos cromáticos unidos por un hilo acromático. Esta disposición es semejante á la que ha sido observada por Godlewsky y por Schaffer en ciertas células de la salamandra.

En las fibras observadas á lo largo se aprecia una sola especie de miofibrillas, pero en los cortes transversales se distingue una línea superficial formada por gruesos granos, la cual bordea la fibra, y numerosos puntitos profundos. Aquéllos corresponderían á las fibrillas limitantes y éstos á las fibras internas de Heidenhain.

Modo de unión de las fibro-células.—Bæltschitzki, primeramente, y después Barfourth, Klecki, Bruyne, Werner, Bohemann, Triepel y otros autores, han señalado la existencia de anastomosis entre fibras y fibras por medio de puentes intercelulares muy finos, que pasarían de un protoplasma á otro.

Esta opinión ha tenido seguramente menos partidarios que detractores (Drasch, Schaffer, Henneberg, Cajal, Garnier, Lenhossék) pero, no obstante, es siempre un punto en litigio que conviene esclarecer. Desde luego, los métodos ordinarios de coloración, y sobre todo el de Heidenhain, revelan, en efecto, la presencia de ciertas fibras lisas é incoloras que parecen unir entre sí las fibro-células.

El método de Cajal, basado en la fijación con nitrato de uranio, revela en ciertos parajes idéntica disposición, pero en otros, en lugar de estos filamentos, la substancia intercelular aparece impregnada y las fibras lisas se dibujan perfectamente con un contorno dentado, debido probablemente á la retracción del protoplasma como Cajal opina, que simula un mosaico análogo al de los endotelios.

Sin embargo, hay sitios donde podría considerarse como cosa indudable la unión de las fibro-células, no por un cemento sólido ó casi sólido, que no puede de ningún modo existir, porque opondría dificultades á la contracción de la fibra, sino por bridas anastomóticas múltiples, las cuales pasarían no solamente de una fibra á otra contigua, sino que también llegarían á otros elementos más distantes, siguiendo los intersticios celulares.

De este modo se forma una trama fibrilar muy espesa, idéntica á la que aparece en los dibujos de Bohemann.

Repetimos que en ciertas preparaciones por el método de Cajal se hace uno la ilusión absoluta de que existen reales anastomosis, y nosotros mismos nos hemos equivocado; pero por los métodos de Achúcarro y de Bielschowsky, sobre todo por este último modificado, hemos cambiado de opinión y podemos negar completamente tales anastomosis.

Por el contrario, aseguramos que toda la espesa trama de fibrillas, que parece enlazar á las fibro-células, corresponde al tejido conjuntivo intersticial.

Tejido conjuntivo interfibrilar. — Según acabamos de decir, los métodos de Achúcarro y Bielschowsky le ponen fácilmente en evidencia en el intestino, estómago y matriz, donde los planos musculares son bastante espesos; pero la mejor demostración la hemos obtenido en la vejiga urinaria, seccionada paralelamente á la superficie, coloreada por el método de Bielschowsky, modificado de la manera siguiente:

1.° Llevar los cortes á la solución argéntica al 2 por 100, procurando que arrastren vestigios de formol.

2.° Prolongar la acción de la plata amoniacal hasta que los cortes adquieran un tono pardo-obscuro.

3.° Reducción en formol al 20.

4.° Decoloración en alumbre de hierro y amoníaco al 3 por 100 con cuidado de que no sea excesiva.

5.° Lavado en agua abundante.

6.° Deshidratación, esencia de clavo, xilol y bálsamo.

Del tejido conjuntivo que rodea los fascículos musculares (rico en haces entrecruzados, células fijas y emigrantes, con algunos corpúsculos adiposos) se separan gruesos haces flexuosos, que penetran vertical ú oblicuamente entre los grupos de fibras, los cuales, en su camino, se dividen y se subdividen en filamentos cada vez más tenues, terminando, después de un trayecto más ó menos largo, en una serie de fibrillas excesivamente finas, que se apoyan al cuerpo celular sin anastomosarse entre sí.

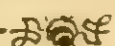
Las características del conectivo intersticial son: la abundancia, no sospechada y en aparente complicación de su trama y su real sencillez, puesto que se reduce á abundantísimas fibras elásticas que avanzan tortuosamente, insinuándose á través de los intersticios, tocando la membrana celular.

Algunas veces, las fibras elásticas siguen la misma dirección de las células musculares, incurvándose en tirabuzón ó en zig-zás. Esta disposición, extremadamente flexuosa, ha hecho creer que lo que constituye un filamento elástico continuo representaba puentes intercelulares. Sin em-

bargo, la citada orientación de las fibras intersticiales no es la más frecuente, y se encuentra sólo en los planos musculares menos espesos. En la vejiga urinaria, el útero, etc. (perro, conejo), donde los planos musculares son muy abundantes, se observa aspectos semejantes á los que han sido observados por Holmgren. Las fibras elásticas, en lugar de seguir la dirección de las fibro-células, se entrecruzan con ellas, saltando de un plano á otro y de uno al otro intersticio.

La abundancia de fibras que se aprecia en nuestras preparaciones no es en modo alguno comparable á la que se ve en las figuras de Holmgren. La red conjuntiva, vista por Prenant entre las fibras musculares lisas del esófago, tampoco es tan espesa como la que hemos descrito.

Cajal había observado hace tiempo, estudiando el plexo intestinal de Auerbach con el azul de metileno (método de Ehrlich-Bethe), la presencia, entre los intersticios de las fibro-células, de ciertas fibrillas tenues, ondulosas y débilmente coloreadas. Algo parecido se discierne con la hematoxilina de Heidenhain; pero el método que, después de los de Bielschowsky modificado y Achúcarro, puede dar mejores coloraciones del conectivo intermuscular es el de Weigert (fuchina-resorcina). Por medio de él hemos logrado últimamente, en el Laboratorio de Mr. Prenant, la coloración de las fibras elásticas en los planos musculares del apéndice humano.



Lesiones peculiares en un cerebro con encefalitis palúdica (¿metapalúdica?)

POR

GONZALO R. LAFORA

Las encefalitis maláricas fueron ya estudiadas hace mucho tiempo. Los principales trabajos han sido los de Marchiafava, Bignami, Laveran, Bastianelli y otros.

Los síndromes clínicos que se producen pueden ser *nerviosos* (paraplegias, hemiplegias, parálisis bulbar, corea, síndromes cerebelosos, etc.) ó *mentales* (fiebre delirante perniciosa, psicosis típica y psicosis de la caquexia palúdica, según Kraepelin).

Los estudios sobre la patología de estos procesos (Marchiafava, Bignami, Marinesco, Cerletti y nosotros) son aún insuficientes y no está agotada la materia.

Sobre la patogenia de las lesiones cerebrales que se producen, divergen las opiniones de los autores. Unos achacan la producción de los síntomas á la caquexia malárica, otros á la congestión de los centros nerviosos ó á las alteraciones de la sangre, ruptura de aneurismas capilares, hemorragias puntiformes y perivasculares. El síndrome polineurítico se ha explicado por la presencia de una toxina circulante ó por la tumefacción y espesamiento de las meninges.

Hace dos años describimos las lesiones cerebrales de dos casos de acceso comatoso de Laveran, de origen palúdico, estudiados por nosotros en Washington. Luego hemos descrito varios síndromes clínicos de hemiplegia con afasia y paraplegia palúdicos, observados aquí en España.

El nuevo caso que vamos á exponer difiere de los restantes, tanto clínica como patológicamente. En las lesiones cerebrales llama la atención la penetracíon del parásito del paludismo en la trama nerviosa, saliéndose de los vasos y superviviendo aparentemente fuera del torrente sanguíneo. Por el contrario, en el torrente circulatorio no se observaba ningún parásito. Estos, en cambio, aparecían acumulados en grandes masas en los espacios linfáticos perivasculares. El hecho de la supervivencia del parásito fuera de los vasos y su penetración en la trama nerviosa, lo que se demuestra por su perfecta conservación morfológica y tintórea en estas regiones, es el dato interesante sobre el que queremos llamar la atención para derivar las conclusiones adecuadas.

El enfermo era un muchacho de veintiún años, negro, que á los dieciocho fué internado en el manicomio de Washington por desórdenes psíquicos semejantes á los de los epilépticos, y que más tarde padeció ataques epilépticos típicos. Las pupilas reaccionaban bien. En toda su historia clínica completa no se mencionan ataques de fiebre. Unos meses antes de morir empezó á progresar mucho el estado demencial; se produce y se acentúa poco á poco un temblor intencional, el lenguaje se hace escanciado y atáxico, semejante al de los paralíticos, se produjeron contracciones mioclónicas por todo el cuerpo, que dominaron el cuadro clínico, hasta que al mes de éstos murió en estado de marasmo y de demencia completa. La reacción de Wassermann, practicada tres veces, fué siempre negativa.

Las lesiones histopatológicas más importantes de los centros nerviosos en este caso, fueron la degeneración aguda y grave de las células nerviosas. Gran neurofagia con fagocitismo intenso por parte de unas células grandes con núcleo de aspecto mesodérmico (¿células endoteliales de los vasos?), los cuales se amoldan á la forma celular, semejando en todo á la célula nerviosa (fenómenos de mimetismo celular). Además se producen numerosas células amiboides neuróglicas. En el bulbo se encontra-

ron acumulaciones de células semejantes á las mesodérmicas, antes descritas, las cuales formaban nódulos como los de Babes en la rabia. No podemos precisar si éstos ocupaban el lugar de una célula nerviosa destruída por estas células neurofágicas, pero parece probable porque el tamaño, la forma y la disposición del nódulo correspondían totalmente con la de una célula nerviosa del bulbo. En las células de neuroglia, aparte de la abundante formación de células amiboides, se observan muchos núcleos en kariorrexis.

Algunas células nerviosas muestran fenómenos reactivos de naturaleza progresiva en el núcleo, tales como la multiplicacion de las esferas acidófilas del nucleolo y en algunas raras células de la corteza la duplicación del núcleo.

Los elementos más peculiares en este caso eran unas grandes células, de igual ó mayor tamaño que el de las neuronas, mostrando varios núcleos (3 á 8) y cuyo protoplasma contenía numerosos parásitos, ya separados y fácilmente distinguibles, ya acumulados y tan numerosos, que no podía discernirse unos de otros. Estas células se encuentran por lo general cerca de los vasos ó de la pía-madre, pero en ocasiones se las ve bastante separadas de ésta. Para decidir si pudiesen yacer en mallas del espacio adventicial invisibles por los métodos ordinarios de tinción, hemos utilizado el método para el tejido conjuntivo de Achúcarro, sin encontrar esas mallas que penetran en la trama nerviosa y que han descrito Snessarew, Achúcarro y últimamente Ranke en la parálisis general y otros procesos encefalíticos.

Las células estas se apartan, pues, de los vasos y el problema interesante es dilucidar si su función es recoger y fagocitar los parásitos salidos de los vasos ó transportarlos ellos mismos de dentro de los vasos á la trama nerviosa. A nosotros nos parece más verosímil el primer mecanismo, pues no creemos haber visto parásitos independientes fuera de los vasos, y, por otra parte, escapa á nuestro alcance qué función tendrían estas células de otro modo, dado su aspecto de macrófagos. El origen de estas células es dudoso. Celetti ha dibujado unas semejantes en la píamadre de sus casos de malaria perniciosa, considerándolos, á nuestro entender con razón, como fibroblastos, pero los que hemos visto nosotros difieren mucho de aquéllos, tanto morfológica como tintóreamente. En tanto que las células descritas por Cerletti eran alargadas con núcleos de abundante cromatina y protoplasma reticulado y algo metacromático, los nuestros son casi todos redondeados, de protoplasma claro y liso y con núcleos casi sin cromatina y un nucleolo grueso acidófilo. A nuestro entender, se trata de derivados de las células adventiciales ó de las endoteliales de los vasos. Los parásitos contenidos en estas células apare-

cen de ordinario bien preservados, teniendo intacta y perfectamente coloreable su cromatina y el pigmento melánico que extraen de los glóbulos rojos por su destrucción.

Queremos llamar la atención sobre esta supervivencia de los parásitos fuera del torrente circulatorio y de su habitual medio de sostén, la hemoglobina de los eritrocitos. Precisamente en este hecho, y en la presencia de parásitos aislados en los espacios linfáticos de los vasos y en la trama nerviosa, creemos que estriba la importancia de las lesiones de los elementos nerviosos en este caso. Histopatológicamente hablando, podemos decir que estas lesiones y las de los vasos, que describiremos á continuación, tienen una semejanza grande con los de la parálisis general, en la que el parásito de la sífilis se sale de los vasos y penetra en la trama nerviosa, según han demostrado las recientes investigaciones de Noguchi, Moore, Levaditi y otros muchos. Podríamos, pues, hablar aquí sólo *histopatológicamente*, como ha acentuado el profesor Pittaluga, de un proceso metapalúdico. Clínicamente, no tenemos base para afirmar lo mismo, si bien la presencia de ciertos síntomas, lenguaje escanciado y atáxico, temblor de labios y lengua, mioclonia intensa, demencia progresiva, etc., hicieron semejar el cuadro clínico al de la parálisis general ó al de la esclerosis múltiple.

Contrastando con la presencia abundante de parásitos del paludismo por fuera de los vasos, no se encontró ninguno en el interior de los mismos. Este hecho pudiera depender de la fase de germinación del parásito, durante la cual murió el enfermo. En este caso no se presentaba la fase aguda del paludismo, pues no se observaron ni cambios en el estado general, ni fiebre; esta ausencia de reacción puede también acompañar á los casos graves de perniciosa palúdica.

Es, sin embargo, muy extraño la ausencia de parásitos en la sangre, dato que hemos confirmado examinando piezas del pulmón, hígado, bazo y riñón. En el bazo hemos encontrado grandes acumulaciones de pigmento hemático.

En las células de los vasos cerebrales se observan fenómenos irritativos que conducen á su desprendimiento y á su modificación morfológica y tintórea. Hay capilares en los que las células endoteliales presentan un protoplasma visible, granuloso y teñido metacromáticamente por la toluidina, observándose segmentos del capilar en los que éste parece recubierto por células plasmáticas, que no son más que estas endoteliales metacromáticas.

En el espacio linfático adventicial de algunos capilares se encuentran algunos linfocitos y raras células plasmáticas hijas, pero nunca células plasmáticas bien desarrolladas. Por el contrario, son muy frecuentes en

la pía y en los capilares más pequeños de la corteza cerebral y cerebelosa células cebadas de grandes tamaños.

Estas lesiones raras que hemos descrito, diferentes de las que vieron otros investigadores en los casos de paludismo pernicioso, nos han movido á hablar en detalle de este caso y á suponer la posibilidad de una encefalitis *metapalúdica*, en el mismo sentido en que se considera actualmente á la parálisis general como una enfermedad *metasifilítica*.



Año III. Enero-Febrero, 1913. Núms. 19 y 20.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

MADRID

IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1913

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Velázquez, 9, 1.°, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

La próxima sesión tendrá lugar en el Colegio de Médicos el viernes 28 de Marzo, á las *seis y media* de la tarde.

Año III. Marzo-Abril, 1913. Núms. 21 y 22.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

MADRID

IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

—

1913

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del BOLETÍN; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del BOLETÍN, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Velázquez, 9, 1.°, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al BOLETÍN es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

La próxima sesión tendrá lugar en el Colegio de Médicos el viernes 16 de Mayo, á las *seis y media* de la tarde.

Año III. Octubre-Noviembre, 1913. Núms. 23 y 24.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

—

1913

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del Boletín; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del Boletín, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Orellana, 10, bajo, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al Boletín es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

La próxima sesión tendrá lugar en el Colegio de Médicos el viernes 19 de Diciembre, á las *seis y media* de la tarde.

Año III. Diciembre, 1913. Núm. 25.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA

SUMARIO

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA

Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1913

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios, los cuales hayan de tomar parte en una sesión, que lleven consigo el original escrito y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del Boletín; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del Boletín, debe dirigirse al Secretario, D. Gonzalo R. Lafora, Orellana, 10, bajo, izquierda, Madrid.

El precio de suscripción al Boletín es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.

La próxima sesión tendrá lugar en el Colegio de Médicos el viernes 27 de Febrero, á las *seis y media* de la tarde.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02775


BINDER
BOSTON, MASS

